Aus der Universitäts-Frauenklinik Basel
Direktor: Prof. Dr. Th. Koller
Arbeit unter Leitung von Dr. C. A. Joël

Zur Physiologie der Spermienbewegung und deren Beeinflussung durch Vitamine und Hormone

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Doktorwürde der Medizinischen Fakultät
der Universität Basel

vorgelegt von

RENE TSCHUMI
Basel

1946

Verlag von S. Karger in Basel

Von der medizinischen Fakultät Basel genehmigt
auf Antrag von Professor Dr. Th. Koller.

Tag der Promotion: 22. Juni 1945

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderdruck aus „Gynaecologia", Vol. 121, Nr. 4 (1946)

Meinen lieben Eltern

Herrn Prof. Dr. *Th. Koller* für die dauernde Unterstützung, welche er dieser Arbeit angedeihen ließ, sowie Herrn Dr. *C. A. Joël* und allen anderen, welche zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, meinen besten Dank.

Einleitung

Nach der Entdeckung der Samenfäden durch *Johann Ham* im Jahre 1677 begann man bald damit, die Lebensbedingungen dieser „Samentierchen", wie sie fälschlicherweise bezeichnet wurden, zu erforschen und den Einfluß von verschiedenen Flüssigkeiten auf ihre Bewegung zu untersuchen. So konnte *Leeuwenhoek*[84] durch Zusatz von Eiweiß ruhende Spermien wieder in Bewegung setzen. Als dann später von *Kölliker*[74] (1847) u. A. der Zellcharakter der Samenfäden erkannt wurde, und man die Vorgänge bei der Befruchtung kennen lernte, gewannen die Untersuchungen über die Physiologie der Samenfäden neuen Auftrieb.

Hierfür waren verschiedene Gesichtspunkte maßgebend. War es zuerst einzig das Interesse des Biologen für die Lebenserscheinungen dieser hochdifferenzierten, so weitgehend vom Körper losgelösten Zellen, kamen auch bald wirtschaftliche Gründe hinzu. Für die Zwecke der künstlichen Befruchtung, deren Möglichkeit bei Mensch und Tier schon von *Spallanzani*[124] (1785) erörtert worden war, suchte man nach einem Medium, in welchem die Samenfäden möglichst lange konserviert bleiben sollten *(Iwanow*[51], *Roemmele*[115], *Mettenleiter*[92, 93]). In neuerer Zeit beschäftigte man sich im Hinblick auf die Antikonzeption mit der spermientötenden Wirkung vieler chemischer Substanzen *(Steinhäuser*[125], *Baker* und Mitarbeiter[1, 4, 5, 7-12], *Boeminghaus* und *Baldus*[27] u. a.). Dazu kommt

heute noch der Umstand, daß bei einigen Genußmitteln, Medikamenten und gewerblichen Stoffen wie Nikotin, Blei, Anilin und manchen anderen Substanzen eine keimschädigende Wirkung als Sterilitätsursache festgestellt wurde, und andererseits die Aussicht, durch Verabreichung von Hormonen die männliche Sterilität günstig beeinflussen zu können.

In dieser Arbeit soll nach Besprechung der wichtigsten Literatur anhand eigener Untersuchungen über die Beeinflussung der Bewegung der menschlichen Spermien in vitro durch Licht, Wärme, Verdünnung, sowie durch einige Vitamin- und Hormonpräparate berichtet werden. Dabei finden wir es vorteilhaft, in einem ersten Teil die Einwirkungen von Temperatur, Licht und Verdünnung auf den Ablauf und die Dauer der Spermienbewegung zu besprechen und dann in einem zweiten Teil auf die mehr chemische Beeinflussung durch Vitamine und Hormone einzugehen.

Es mag der Einwand erhoben werden, daß die Bedingungen in vitro von denjenigen innerhalb des Körpers sehr verschieden seien und daß deshalb solchen Versuchen keine Bedeutung beizumessen sei. Wir stehen aber auf dem Standpunkt, daß es schon rein zellphysiologisch von Interesse ist, das Verhalten der Spermien außerhalb des Organismus und ihre Lebensdauer unter optimalen, wenn auch normalerweise nicht vorhandenen Bedingungen zu untersuchen. Ferner ist es auch möglich, in der Resistenz gegen bestimmte Chemikalien und äußere Einflüsse, sowie in der Bewegungsdauer in vitro, Kriterien für die Fertilität der Samenzellen zu finden. Damit wären dann solche Versuche auch bei der Samenuntersuchung wegen Sterilität berechtigt, wie sie ja von *Joël* und *Pollak* [65], *Weisman* [132] u. a. teilweise schon durchgeführt werden.

1. Teil: Zur Physiologie der Spermienbewegung

1. Literaturübersicht

Bedeutung der Spermienbewegung: Als einzige, sichtbare Lebensäußerung wurde früher die Bewegung allein als Kriterium in der Spermabeurteilung verwendet. Heute wissen wir durch die Untersuchungen von *Hammond* [46], *Moench* [94], *Knaus* [73], *Williams* [133] u. a., daß ein unbeweglicher Samenfaden sich in einem Ruhezustand befinden kann und deshalb nicht tot zu sein braucht, während noch gut bewegliche Spermien ihre Befruchtungsfähigkeit schon eingebüßt haben können, sofern sie überhaupt je befruchtungsfähig waren. Doch darf die Bedeutung der Spermienbeweglichkeit auch nicht

unterschätzt werden, denn, wenn auch Autoren wie *Belonoschkin*[18, 19, 20] und *Joël*[63] zeigen konnten, daß das Eindringen der Spermien in die inneren Geschlechtsorgane der Frau durch Saugwirkung von Uteruskontraktionen im Orgasmus unterstützt wird, so ist doch der Orgasmus ja nicht eine unbedingte Voraussetzung für das Zustandekommen einer Befruchtung, und wir sehen oft, daß bei Sterilität vor allem eine Störung der Bewegungsverhältnisse vorliegt.

Verhalten innerhalb des männlichen Organismus: Während die Hodenspermien noch unreif sind und sich deshalb nur schwach bewegen, nimmt die Bewegungsfähigkeit auf dem Weg durch den Nebenhoden fortlaufend zu. Die Bewegungsdauer der Samenfäden aus dem Nebenhodenschweif ist doppelt so lang wie diejenige der Nebenhodenkopfspermien, und gleichzeitig wird auch die Widerstandsfähigkeit gegen Wärme und Elektrolyte erhöht (*Stigler*[126], *von Lanz*[80, 81, 82], *Redenz*[109, 111], *Moench*[96], *Belonoschkin*[19, 21, 22] u. a.) Man nimmt an, daß im Nebenhoden eine bewegungsfördernde Substanz sezerniert wird, welche sich in Form einer schutzkolloidalen Hülle um jeden einzelnen Samenfaden legt (*Redenz*[109] u. a.). Im Nebenhoden selbst ist aber die Bewegung durch Anhäufung von sauren Stoffwechselprodukten, durch die Dichte der Samensuspension und durch die Viscosität der Samenflüssigkeit gehemmt, so daß sie erst nach Verdünnung mit den alkalischen Sekreten der accessorischen Geschlechtsdrüsen ausgelöst werden kann (*Cohn*[30, 31], *v. Lanz*[82], *Redenz*[111], *Belonoschkin*[19, 21, 22]).

Bewegungsauslösung: Bei den Fischen machten *Schlenk* und *Kahmann*[120] die Beobachtung, daß die Bewegungsauslösung nicht durch einfache Verdünnung mit Wasser vollzogen wird, sondern daß innerhalb des Organismus die Spermienbewegung durch eine, im Verhältnis zu anderen Ionen hohe Kaliumionenkonzentration gehemmt wird. Die Bewegungsbereitschaft wird durch die Gesamtsalzkonzentration aufrechterhalten. Wenn das Sperma nun mit dem natriumreichen und kaliumarmen Flußwasser verdünnt wird, sinkt die Kaliumkonzentration ab und die Bewegungshemmung wird aufgehoben. Dieser Vorgang konnte im Reagenzglas mehrere Male hintereinander wiederholt werden. Bei den Säugetieren wurde eine analoge Art der Bewegungsauslösung bis jetzt nicht nachgewiesen. Während *Hirokowa*[48], *Muschat*[99] und *Belonoschkin*[19] in der Alkalität der Prostataflüssigkeit eine

genügende Erklärung für ihre günstige bewegungsauslösende Wirkung sehen, nimmt *Iwanow* [50, 52, 53] als Hauptwirkung der accessorischen Geschlechtsdrüsen die Verdünnung des Spermas mittels ihrer Sekrete an. Daneben glaubt er aber noch an Elemente fermentativen Charakters, welche eine maximale Beweglichkeit ermöglichen sollten. Daß die Wirkung des Prostatasekretes nicht an die in ihm vorkommende Base Spermin geknüpft ist, wurde von *Redenz* [110] nachgewiesen.

Stoffwechsel: Die Bewegungsenergie wird durch verschiedene Stoffwechselprozesse geliefert. Nach *Goldblatt* [40] ist in der Samenflüssigkeit 2—3mal mehr Glucose vorhanden als im Blut. Wird das Sperma stehen gelassen, verringert sich dieser Zuckergehalt fortlaufend, während in immer größeren Mengen Milchsäure nachgewiesen werden kann. Mit Hilfe der Warburgapparatur ist es möglich, den Sauerstoffverbrauch des Spermas zu messen *(Windstoßer* [134], *Iwanow* [57]). Der respiratorische Quotient beträgt in Anwesenheit von Glucose beinahe 1,0, bei Fehlen von Zucker nur 0,78, was darauf hinweist, daß in erster Linie Kohlehydrate verbraucht werden. Die Bewegung bleibt auch unter anaeroben Bedingungen erhalten *(Iwanow* [54]*). Zeller* und *Joël* [138] berichten, daß der größte Teil des Sauerstoffs nicht von den Samenfäden selbst verbraucht wird, wie man bis jetzt angenommen hat, sondern von der Diaminoxydase, welche identisch ist mit der von *Best* [25] entdeckten Histaminase. Dieses Ferment verbraucht Sauerstoff und kann u. a. auch die im Sperma enthaltenen Polyamine Spermin und Spermidin aufspalten. Die beiden Autoren nehmen an, daß zwei Fermentsysteme mit der Spermienbewegung im Zusammenhang stehen, das glycolytische und das Diamino-Oxydasesystem. Beide können die Bewegung für sich allein unterhalten. Die Diaminoxydase wird durch Blausäure und ähnliche Fermentinhibitoren gehemmt, während die Glycolyse durch diese Reagentien aktiviert wird. Letztere wird aber durch Jodacetat gehemmt, die Diaminoxydase dagegen durch größere Mengen dieses Stoffes aktiviert. Daraus ergibt sich, daß die Bewegung durch bloße Fermentinhibitoren nie vollständig stillgelegt werden kann. *Cohn* [30, 31] hat die Ansicht ausgesprochen, daß die total verbrauchte Energie, gemessen an der Kohlensäureproduktion, immer konstant sei, so daß die Samenfäden bei geringerer Aktivität eine längere Lebensdauer besitzen und bei gesteigerter Bewegung dagegen rascher absterben würden. Diese Annahme ist aber

in dieser einfachen Form schon mehrfach widerlegt worden. Wahrscheinlich ist es auch möglich, die verbrauchte Energie durch Zufuhr von leicht assimilierbaren Kohlehydraten zu ersetzen.

Wasserstoffionenkonzentration: Die aktuelle Reaktion übt einen großen Einfluß auf die Beweglichkeit der Samenfäden aus. In saurem Milieu ist die Bewegungsdauer stark verkürzt, bei starker Alkalität agglutinieren die Spermien *(Gray*[42], *Mettenleiter*[93] u. a.). *Roemmele*[115] stellte an Rinderspermien ein Optimum von p_H = 7,5—7,8 fest, *Yamane* und *Kato*[137] beim Pferd ein solches von 7,2—7,5. In sehr sorgfältigen Untersuchungen fand *Muschat*[99] beim Menschen die beste Beweglichkeit bei p_H = 8,5—9,5. *Joël* und *Pollak*[65] unterscheiden zwischen acidophilen und alkaliphilen Samenfäden. Es ergibt sich also aus diesen Angaben, daß das p_H von Verdünnungslösungen bei Versuchen in vitro leicht alkalisch eingestellt werden sollte.

Verdünnung und künstliche Medien: Bei starker Verdünnung mit künstlichen Medien sterben die Samenfäden rasch ab. Während *Popa*[107] annimmt, daß durch gewisse Flüssigkeiten, wie z. B. physiologische Kochsalzlösung eine Lipoidmembran um die Spermien allmählich aufgelöst wird und diese dadurch geschädigt werden, glauben *Baker*[2] und *Granzow*[41], daß sich im Nebenhodensekret eine Substanz befindet, welche auf die Samenfäden bewegungsverlängernd wirkt, und welche infolge Konzentrationsverminderung unwirksam wird. Je stärker das Sperma verdünnt wird, umso kürzer ist die Lebensdauer *(Ishikawa*[49]). Doch wurde von mehreren Autoren festgestellt, daß eine 3—10fache Verdünnung auf die Motilität der Samenfäden günstig wirkt, sofern eine isotone Flüssigkeit verwendet wird. Oft bleiben die Spermien länger beweglich als im unverdünnten Ejakulat *(Wolf*[135], *Guggenberger*[45], *Komatsu*[76], *Weisman*[132] u. a.). Auch *Ishikawa*[49] erzielte in seinen Versuchen die längsten Bewegungszeiten bei zehnfacher Verdünnung mit 0,7 % Kochsalzlösung. Dagegen berichtet *Belonoschkin*[16] von einer starken Verkürzung der Lebensdauer bei Zusatz von 15 Teilen Ringerlösung zum Sperma.

Als Verdünnungslösungen wurden meist Kochsalz- oder Glucoselösungen verwendet, ferner Ringer-, Locke- und Tyrodelösung. Durch Zusätze von Phosphaten, Magnesiumsalzen und anderen Stoffen konnten die Resultate noch verbessert werden *(Hirokowa*[48], *Sato*[116], *Mettenleiter*[93], *Roemmele*[115],

Granzow[41], *Moench*[95], *Bederke*[15] u. a.). *Baker*[2,3] stellte fest, daß in der Ringerlösung und ihren Variationen Stoffe enthalten sind, welche für die Spermienbewegung bedeutungslos sind, und gibt eine Lösung von Glucose, etwas Kochsalz und Phosphatpuffern als ideale Spermasuspensionslösung an.

Temperatureinfluß: Qualität und Dauer der Spermienbewegung werden in vitro am meisten durch die Temperatur beeinflußt. So bewirken höhere Temperaturen eine Steigerung der Intensität der Bewegung, verkürzen diese aber recht erheblich *(Mantegazza*[90]). *Stigler*[126] unterscheidet eine reversible Wärmelähmung bei kurzdauernder Hitzeeinwirkung von einer irreversiblen Wärmestarre. Bei Temperaturen von 46—48 °C. werden die Samenzellen rasch unbeweglich, bei 41 °C. dauert die Bewegung 6—8 Stunden, bei Körpertemperatur 18—23 Stunden und bei Zimmertemperatur von 19—23 °C. 36—82 Stunden *(Belding*[15], *Moench*[95,96], *Weisman*[131] u. a.). *Guggenberger*[45] erreichte bei dieser Temperatur sogar Bewegungszeiten bis zu 346 Stunden.

Kälte übt dagegen einen konservierenden Einfluß aus *(Mantegazza*[90]). Die Bewegung wird aufgehoben und die Samenfäden in einen Ruhezustand versetzt, welcher durch Wärmezufuhr beliebig oft aufgehoben werden kann *(Belonoschkin*[19]). Bei Eiskastentemperatur von 8° C gelang es *Belding*[15], Spermien in Bakerlösung bis zu 626 Stunden am Leben zu erhalten, bei einer Durchschnittszeit von 153 Stunden. *Jahnel*[62] und *Shettles*[122], welche die Einwirkungen von extrem tiefer Kälte prüften, konnten beobachten, daß einige Samenfäden noch bewegungsfähig waren, nachdem sie 5 Stunden lang der Temperatur von flüssigem Helium (—269° C) ausgesetzt waren.

Lichteinfluß: Die Resultate der bisherigen Untersuchungen widersprechen sich vollkommen. *Ochi*[103] berichtet über eine Schädigung der Spermien durch Sonnenlicht. Nach *Moench*[94], wie auch nach *Segre* und *Valle*[121] ist es dagegen gleichgültig, ob die Spermien dem Licht ausgesetzt oder im Dunkeln gehalten werden, während *Guggenberger*[45] behauptet, daß Dunkelheit verkürzend, gelbes oder gelbgrünes Licht dagegen günstig auf die Dauer der Bewegung einwirke. Ultraviolettes Licht verkürze die Bewegung, während sich Röntgenstrahlen indifferent verhalten sollen *(Segre* und *Valle*[121]).

II. Eigene Versuche

1. Material und Methodik. Sperma: Für unsere Versuche verwendeten wir 15 Ejakulate von 12 Männern im Alter zwischen 24 und 39 Jahren, welche zum größten Teil wegen steriler Ehe zu uns zur Untersuchung kamen. Als Kriterien für die Spermabeurteilung dienten uns die Zahl der Spermien pro cm^3, das Verhältnis der Zahl der beweglichen Samenfäden zu den Unbeweglichen, sowie die Morphologie der Ausstrichpräparate *(Joël* und *Pollak* [66]*)*. Für die Versuche wählten wir hauptsächlich normales Sperma aus, in einigen Fällen wurden auch Ejakulate mit geringerer Spermienzahl, mit vermehrten pathologischen Formen oder mit verminderter Beweglichkeit verwendet.

Die Gewinnung des Spermas erfolgte durch Coitus interruptus oder per onaniam in ein steriles, zirka 30 cm^3 fassendes, dunkles Fläschchen, welches dann spätestens in einer Stunde ins Laboratorium gebracht wurde. Von der Ejakulation bis zum Versuchsbeginn vergingen durchschnittlich 2—3 Stunden. Kondomsperma wurde von uns nie verwendet, um nicht durch spermienschädigende Einflüsse von Kondompudern und Imprägnationsstoffen getäuscht zu werden.

Verdünnungslösungen: Das Sperma wurde mit der von *Baker* [3] angegebenen Spermasuspensionslösung verdünnt. Diese besteht aus:

3,0 Glucose
0,6 Na_2HPO_4
0,2 NaCl
0,01 KH_2PO_4
100,0 Aqua dest.

Das pH dieser Lösung beträgt 7,8. Die in einigen Fällen zum Vergleich verwendete Ringerlösung hatte ein pH von 6,0, gemessen mit Lyphan-Indikatorstreifen. Die Lösungen wurden für jede Versuchsreihe frisch hergestellt.

Störungsfaktoren: In den ersten Versuchsreihen wirkte sich das sehr rasche Bakterienwachstum störend auf Ablauf und Dauer der Spermienbewegung aus, weshalb in der Folge alle Glaswaren, welche mit dem Sperma oder den Verdünnungslösungen in Berührung kamen, sterilisiert wurden. Die Störung konnte damit zwar nicht gänzlich ausgeschaltet werden, weil ja das Sperma nicht steril gewonnen werden konnte. Wir erreichten aber immerhin eine starke Verzögerung des Bakterien- und Pilzwachstums, welches nun oft erst nach 14 Tagen auftrat und dann in vielen Fällen die Beweglichkeit der Spermien nicht mehr beeinträchtigte.

Versuchstechnik: Wir lehnten uns an die Methode an, welche schon von *Günther* [44] und dann von *Joël* und *Pollak* [65] angewandt wurde. In spitz ausgezogene Glaskapillaren von 15 cm Länge und zirka 1,5 mm lichter Weite, welche bei 0,02 und 0,2 cm^3 markiert waren, wurde bis zur Marke 0,02 Sperma und bis zur zweiten Marke die entsprechende Lösung aufgezogen. Der Inhalt der Kapillare wurde rasch in ein Uhrglas ausgeblasen, durchgemischt und mittels der gleichen Kapillare in die Delle eines Hohlobjektträgers übertragen, welche vorher von steriler Vaseline umgeben worden war. Dann wurde ein Deckglas aufgelegt und mittels Filtrierpapier ausgedrückt, wobei das Entstehen von Luftblasen

möglichst vermieden wurde. Das Material war nun auf diese Weise luftdicht abgeschlossen und es zeigten sich auch nach Wochen noch keine Verdunstungserscheinungen. Diese Methode besitzt den Vorteil, daß das Sperma zur Beobachtung nicht berührt oder umgeleert werden muß und die Präparate jederzeit und beliebig oft kontrolliert werden können.

Die Beobachtung erfolgte bei 240facher Vergrößerung; die Schätzung des Verhältnisses der beweglichen zu den unbeweglichen Samenfäden wurde durch eine Ehrlich'sche Quadrantenblende erleichtert.

Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur von 18—23° C durchgeführt, die Präparate wurden, sofern sie nicht gerade beobachtet wurden, in einer geschlossenen Präparatenmappe aufbewahrt.

Beurteilung: Die *Zahl* der beweglichen Spermien wurde im Verhältnis zu den Unbeweglichen geschätzt. Wir sind uns bewußt, daß diese Methode sehr subjektiv ist. Wir schätzten deshalb auch nur in Werten von 10 zu 10 % und versuchten, Täuschungen dadurch möglichst auszuschalten, daß wir immer viele Präparate — bis 18 in einer Versuchsreihe — hintereinander beurteilten. Mit der Zeit erhielten wir eine gewisse Erfahrung, so daß die als Stichproben vorgenommenen Zählungen mit den geschätzten Ergebnissen annähernd übereinstimmten.

Die *Bewegungsqualität* wurde mit Hilfe eines Zahlenschemas ausgedrückt. Dabei bedeutet

5 sehr rasche, propulsive Bewegung
4 rasche, propulsive Bewegung
3 trägere, größtenteils noch propulsive Bewegung
2 rasche Pendelbewegung an Ort und Stelle
1 träge Pendelbewegung
0 absolut keine Bewegung mehr sichtbar.

Die Übergänge der einzelnen Bewegungsstadien werden durch Zwischenwerte angegeben.

Als *Bewegungsdauer* der Spermien bezeichneten wir diejenige Zeit, in welcher zum letztenmal eine, wenn auch geringe Bewegung (1—0) festgestellt werden konnte. Oft gelang es uns, gegen das Ende des Versuches durch Zugabe frischer Bakerlösung eine starke Verbesserung der Bewegungsqualität zu erzielen, welche dann einige Stunden anhielt. In Zweifelsfällen hatten wir so eine Bestätigung, daß die Spermien ihre Beweglichkeit noch nicht eingebüßt hatten. Die Zeit zwischen Ejakulation und Versuchsbeginn, meist 2—3 Stunden, wurde in die Berechnung der Bewegungsdauer nicht einbezogen. Sie kann auch umso mehr vernachlässigt werden, da wir die Beobachtungen nur ein- bis zweimal in 24 Stunden vorgenommen haben und somit der genaue Zeitpunkt des Bewegungsstillstandes nicht festgestellt werden konnte. Unsere Angaben sind deshalb Minimalwerte.

Auswertung der Ergebnisse: Wir verzichteten auf die Berechnung des mittleren Fehlers der einzelnen Versuchskategorien, da ja die Methoden der Wahrscheinlichkeitsrechnung nicht ausreichen, um Fehler von Laboratoriumsversuchen auszuschließen, wie auch *Ritala*[114] ausführt. In unserem Falle sind die Fehlerquellen besonders groß: Temperaturschwankungen, Bakterienwachstum und individuelle Faktoren bei den verschiedenen Ejakulaten führten zu starken Abweichungen der Versuchsergebnisse.

Da nicht in jeder Reihe gleiche Versuche durchgeführt wurden und deshalb auch nicht jede Substanz gleichwertig geprüft werden konnte, stellten wir aus dem Durchschnitt aller Kontrollen (Bakerlösung) der 15 Versuchsreihen eine „Normalkurve" K auf, mit deren Hilfe alle Werte miteinander verglichen werden können. Die Versuchswerte V_1 aus den Reihen A, B und C verhalten sich zu einem zu errechnenden Wert V wie die Kontrollen K_1 der betreffenden Versuchsreihen zu dem der Normalkurve entnommenen Durchschnittskontrollwert K. Daraus ergibt sich

$$V = \frac{K \cdot V_1}{K_1}$$

Die individuellen Besonderheiten des Spermas einer Versuchsreihe, welche ja auch in den Kontrollversuchen zum Ausdruck kommen, konnten auf diese Weise ausgeschaltet werden.

2. *Der Einfluß der Verdünnung:* Wird das Sperma zehnfach mit Baker- und Ringerlösung verdünnt, zeigt sich unter dem Mikroskop in den ersten Stunden gegenüber dem Vitalpräparat kein Unterschied. Während sich dann aber im unverdünnten Sperma nach 10—24 Stunden Klumpen von agglutinierten Spermien bilden, tritt in den Verdünnungen nur bei hohen Spermienzahlen eine eigentliche Agglutination ein. Dagegen kann man auch hier nach einiger Zeit beobachten, daß viele Samenfäden mit dem Kopf oder der Schwanzspitze festgeklebt scheinen und dabei mit dem übrigen Körper um diesen Fixpunkt hin- und herpendeln, gleich wie die agglutinierten Spermien im Vitalpräparat. Zwischen diesen fixierten Spermien schwimmen die noch frei beweglichen Samenzellen umher. Ihre Zahl nimmt aber immer mehr ab, und wie wir aus Kurve 1 ablesen können, beträgt sie im Vitalpräparat nach 36 Stunden noch etwa 5 %, während nach 72 Stunden nur noch einzelne schwache Schwanzbewegungen festzustellen sind. In Ringerlösung bewegen sich nach 36 Stunden noch ca. 15 %, nach 72 Stunden noch 5 % Spermien, während die Zahlen für Bakerlösung über 20 %, bezw. 10 % betragen. Die Bewegungsqualität, welche in Kurve 2 dargestellt ist, wird ähnlich beeinflußt, nur zeigt sich, daß die Ringerlösung, verglichen mit dem Vitalpräparat, die Intensität der Bewegung nicht groß beeinflußt. Dagegen wird auch diese von der Bakerlösung gefördert, wobei sehr wahrscheinlich neben dem Nährstoffgehalt auch die günstige Wasserstoffionenkonzentration und die gute Pufferung für die günstige Wirkung ausschlaggebend sind. Die Beweglichkeit ist nach einigen Stunden oft besser als bei Versuchsbeginn und in einem Falle von Asthenospermie konnte sie vom Bewegungsgrad 1 bei Versuchsbeginn auf

4—3 verbessert werden. Aus der trägen Pendelbewegung ergab sich also wieder die charakteristische, propulsorische Bewegung.

Tabelle 1

Der Einfluß der Verdünnung mit Bakerlösung auf die Bewegungsdauer der Spermien

	Zahl der Versuche	Mittlere Bewegungsdauer	Minimum	Maximum
Vitalpräparate	17	85 h	3 h	252 h
Bakerlösung	29	195 h	28 h	700 h

Tabelle 2

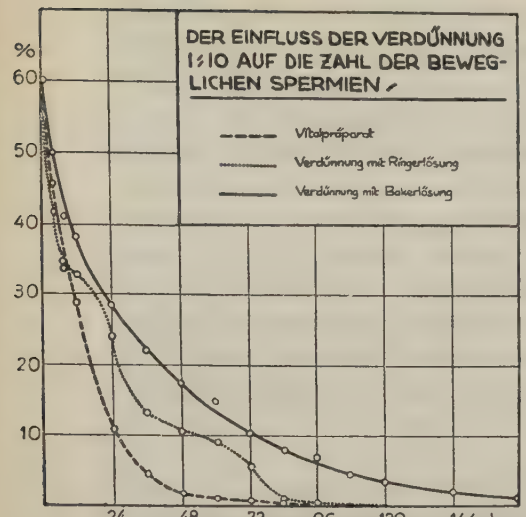
Vergleich der Verdünnung mit Ringer- und Bakerlösung

	Zahl der Versuche	Mittlere Bewegungsdauer	Minimum	Maximum
Vitalpräparate	6	134 h	69 h	220 h
Ringerlösung	4	127 h	69 h	200 h
Bakerlösung	4	230 h	51 h	429 h

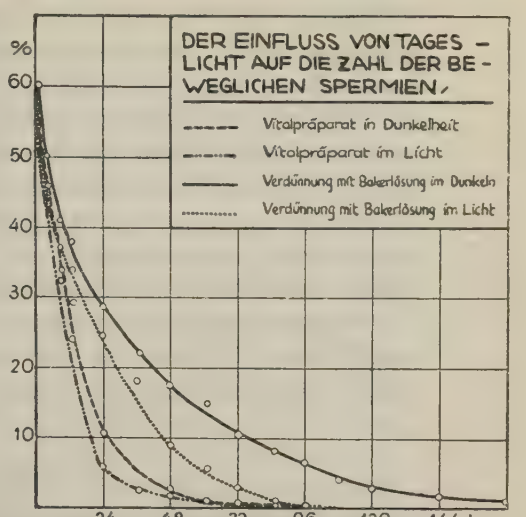
Unseren Zusammenstellungen der Bewegungsdauer (Tabellen 1 und 2) ist zu entnehmen, daß durch Verdünnung mit Bakerlösung die durchschnittliche Bewegungszeit verdoppelt wird (von 85 auf 195 Stunden), während die Versuche mit Ringerlösung ergeben, daß diese die Dauer der Bewegung leicht herabsetzt. Allerdings liegen die Zahlen noch innerhalb der Fehlergrenze. Immerhin können wir daraus schließen, daß die *Ringerlösung zwar keinen schädlichen Einfluß auf die Spermienbewegung ausübt,* aber auch nicht als ideale Spermasuspensionslösung angesprochen werden kann, im Gegensatz zur *Bakerlösung, welche den Bewegungsablauf verlängert, die Bewegungsqualität steigert und die Bewegungsdauer beinahe verdoppelt.*

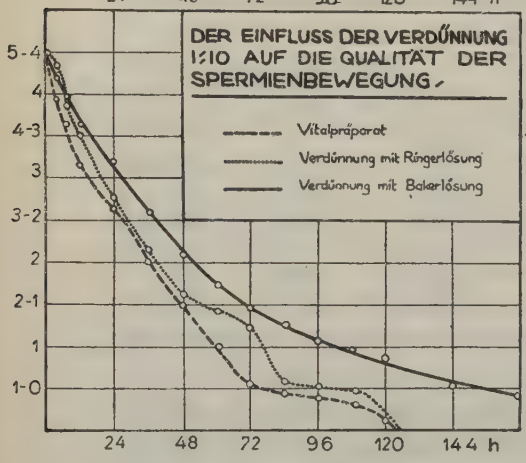
In einigen Versuchen gelang es uns, nach einer Bewegungsdauer von über 600 Stunden, durch Zugabe von frischer Bakerlösung eine Steigerung der Bewegung einzelner Samenfäden von 1—0 auf 3 oder 4 zu erzielen, welche mehrere Stun-

1

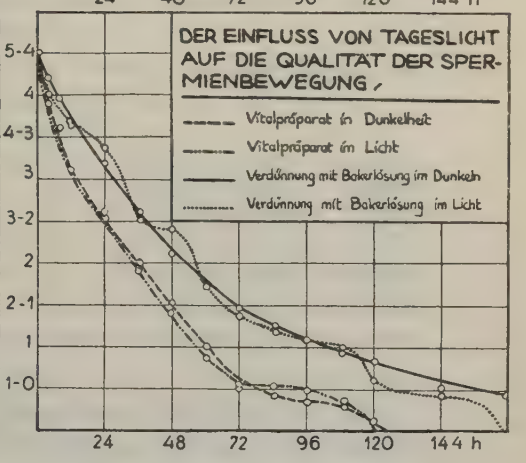


3





2



4

den, teilweise sogar Tage anhielt. Diese Beobachtung stützt weitgehend unsere Annahme, daß die Samenfäden die Fähigkeit besitzen, Nährstoffe aus der umgebenden Flüssigkeit aufzunehmen und sie in Bewegungsenergie umzusetzen.

3. *Der Einfluß der Wärme:* In einigen Fällen untersuchten wir die Wirkung der Wärme auf die Spermienmotilität und bewahrten deshalb die Präparate bei Temperaturen von 36 bis 38 °C. im Brutschrank auf.

In der Wärme wird die Aktivität der Samenzellen außerordentlich gesteigert. In einer Versuchsreihe sahen wir uns

sogar genötigt, eine besondere Qualitätsbezeichnung (5!) einzuführen, weil die Spermien so blitzschnell im Gesichtsfeld herumschossen, daß die gewöhnliche Bewertung 5 nicht mehr ausreichte. Diese aufs äußerste gesteigerte Motilität hält 5 bis 10 Stunden an, dann nimmt die Bewegung rasch ab und nach 24 Stunden sind alle Samenfäden unbeweglich. Allerdings wurden unsere Brutschrankversuche durch das überaus starke Bakterienwachstum gestört, auch setzte nach 7—8 Stunden eine starke Gasentwicklung ein, welche mit der Zeit den Vaselinabschluß unserer Präparate sprengte.

Unsere Ergebnisse stimmen vollkommen mit den Resultaten von *Belding* [15], *Moench* [96] und *Weisman* [131] überein, welche für diese Temperatur eine Bewegungsdauer von 8—18 Std. angeben.

Tabelle 3

Der Einfluß des Tageslichtes auf die Bewegungsdauer der Spermien

		Zahl der Versuche	Mittlere Bewegungsdauer	Minimum	Maximum
Tageslicht	Vitalpräparate	10	92 h	58 h	187 h
	Bakerlösung	10	172 h	73 h	269 h
Dunkelheit	Vitalpräparate	10	120 h	69 h	220 h
	Bakerlösung	10	193 h	51 h	429 h

4. *Der Einfluß von Tageslicht:* In den ersten Versuchsreihen machten wir zufällig die Beobachtung, daß bei Aufbewahrung der Präparate in einer geschlossenen Präparatenmappe die Bewegung viel länger zu dauern schien, als bei offener Mappe. Wir führten deshalb einige besondere Versuche durch, um den Unterschied genau festzustellen. Leider konnten wir diese Versuche erst im Spätherbst und Winter vornehmen, während einer Zeit also, in welcher die Lichtintensität sehr gering und die Belichtungszeit sehr kurz war. Trotz diesen ungünstigen Verhältnissen zeigt sich aber doch, daß das *Tageslicht die Bewegungsdauer der Spermien verkürzt* (Tabelle 3). Sowohl bei den Vitalpräparaten, wie in den Verdünnungslösungen bleiben die Samenfäden in der Dunkelheit länger in Bewegung. Wie wir in der Kurve 3 ablesen können,

nimmt auch die Zahl der beweglichen Spermien im Licht schneller ab, besonders ausgeprägt in Bakerlösung. Ein Einfluß auf die Qualität der Bewegung (Kurve 4) kann hingegen nicht festgestellt werden.

Es ist anzunehmen, daß diese Verhältnisse im Sommer noch deutlicher zum Ausdruck kommen würden.

III. Diskussion

Was in unsern Versuchen am meisten auffällt, ist die lange Bewegungsdauer der Samenfäden. Sie betrug im Vitalpräparat maximal 220 Stunden, bei Verdünnung mit Bakerlösung in einer Versuchsreihe sogar über 700 Stunden. Wie wir später noch sehen werden, wurde dieser Wert in der gleichen Versuchsserie auch bei Zugabe von Thyroxin und Vitamin E erreicht. Auch andere Autoren haben schon ähnlich hohe Werte angeführt. Für unverdünntes Sperma gibt *Nürnberger*[102] eine Bewegungsdauer bis zu 7 Tagen an, *Guggenberger*[45] ca. 10 Tage und bei Verdünnung mit Ringerlösung noch 4—5 Tage mehr. Bei Eiskastentemperatur konnte *Belonoschkin*[16] im unverdünnten Präparat noch nach 15 Tagen Bewegungen nachweisen und *Belding*[15] gelang es sogar, Spermien in Bakerlösung bis 626 Stunden beweglich zu erhalten. Mit Ausnahme von *Nürnberger* und *Guggenberger* sind wir aber die einzigen, welche so hohe Werte bei Zimmertemperatur erreichten. Wir führen diese Resultate vor allem auch auf unsere Versuchstechnik zurück. Während die meisten anderen Autoren das Sperma in Reagenzgläsern etc. aufbewahrten und daraus zur Beobachtung jedesmal einen Tropfen entnehmen und ihn auf einen Objektträger bringen mußten, sind solche, sicher nicht gerade bewegungsfördernde Manipulationen bei unseren Hohlobjektträgerpräparaten unnötig. Die Spermien sind in der für sie außerordentlich günstigen Bakerlösung unter Luftabschluß suspensiert und leiden einzig unter der Entwicklung von Bakterien und Pilzen. Aus der Arbeit von *MacLeod*[89] geht hervor, daß die Bewegung gerade unter anaeroben Bedingungen sehr lange erhalten bleibt und erst nach Sauerstoffzutritt abnimmt.

Der in der Bakerlösung enthaltene Traubenzucker dient sehr wahrscheinlich den Samenfäden als Energiequelle. Schon *Yamane* und *Kato*[136] hatte beobachtet, daß Pferdespermien, welche mit isotoner und mit Phosphaten gepufferter Dextrose-

lösung versetzt wurden, 10—20 mal länger beweglich blieben als im reinen Sperma. Ebenso erhielten *Moench*[94] und *Redenz*[112] eine Verlängerung der Bewegungsdauer in Glucoselösung. *Williams*[133] erklärt, daß der Stoffwechsel, von welchem die Spermienbewegung abhängig ist, entweder durch Speicherenergie oder durch Energieaufnahme aus dem umgebenden Milieu betrieben wird. Dagegen behauptet *Belonoschkin*[19], Zucker sei höchstens ein lebenserhaltendes, niemals aber ein energieliefernde Mittel. Wenn wir aber die Ergebnisse unserer Vergleichsversuche von Bakerlösung mit der glucosefreien Ringerlösung betrachten, in welchen die Bewegung in Ringerlösung 137 Stunden, diejenige in Bakerlösung aber durchschnittlich 230 Stunden anhielt, während die Maximalwerte noch bedeutend mehr divergierten (Tabelle 2), und wenn wir sehen, wie die Beweglichkeit der Spermien nach 600 Stunden durch Zugabe von frischer Bakerlösung schlagartig verbessert wurde, so können wir uns der Meinung von *Belonoschkin* nicht anschließen.

Die Temperatur von ca. 18° C scheint für die Samenfäden optimal zu sein. Weder wird die Bewegungsintensität verringert, wie bei tieferen Temperaturen, noch die Bewegungsdauer verkürzt, wie in der Wärme. Besonders interessant war es, die außerordentliche Steigerung der Bewegungsintensität unter Wärmeeinfluß zu beobachten. Bei der Vornahme von künstlichen Befruchtungen sollte unseres Erachtens das Sperma kurz vor der Injektion vorsichtig auf Körpertemperatur erwärmt werden. Eine gleichzeitige Verdünnung mit Bakerlösung würde die Beweglichkeit der Samenfäden noch steigern.

Die Kenntnis der absoluten Bewegungsdauer der Samenfäden kann für die Spermabeurteilung bei Sterilitätsuntersuchungen von Nutzen sein. Denn nicht alle Spermien aus den verschiedenen Ejakulaten zeigten die gleiche Bewegungsdauer, auch unter gleichen, äußeren Bedingungen. Diese ist vielmehr von individuellen Faktoren abhängig. So erhielten wir bei einem Probanden in 3 Untersuchungen gleiche, sehr hohe Bewegungszeiten, während bei anderen die Bewegung wiederholt sehr bald zum Stillstand kam. Die Bewegungsdauer bietet uns also einen Anhaltspunkt für die Widerstandskraft der Spermien gegenüber äußeren Einflüssen und für ihre Lebenskraft schlechthin. Wir schlagen deshalb vor, in ungeklärten Sterilitätsfällen auch dieses Kriterium zur Spermabeurteilung heranzuziehen.

Zweiter Teil

Die chemische Beeinflussung der Spermienmotilität

1. Literaturübersicht

Wie wir schon in der Einleitung betont haben, wurden chemische Versuche mit Spermien seit deren Entdeckung durchgeführt. Ausführliche Untersuchungen wurden in der Mitte des letzten Jahrhunderts von de *Quatrefages*[108], *Moleschott* und *Ricchetti*[97] und vor allem von *Kölliker*[75] mit verschiedenen Salzlösungen, Säuren, Laugen, Körperflüssigkeiten und anderen organischen Stoffen an Samenfäden der verschiedensten Tierarten vorgenommen. Allen diesen Arbeiten gebührt aber zum größten Teil nur noch historisches Interesse, da sie in Unkenntnis wichtiger physikalisch-chemischer Faktoren, wie z. B. molekularer Konzentration und p_H vorgenommen wurden. Der Erste, welcher sich unter Berücksichtigung dieser Verhältnisse mit chemischen Versuchen an Spermien befaßte, war *Günther*[44] (1907).

Spermiengifte: Günther erklärte, daß Säuren die Samenfäden nur bei hoher Konzentration abtöten, daß bei stärkerer Verdünnung dagegen nur eine bewegungshemmende Wirkung eintrete, welche sich durch Zugabe von Alkalien wieder rückgängig machen lasse. Dagegen erwiesen sich viele Metallsalze, Antiseptica und Substanzen mit starkem Reduktionsvermögen wie Resorcin und Hydrochinon als eigentliche Spermiengifte.

Bei allen chemischen Substanzen verhält sich die Giftigkeit proportional der Konzentration der Lösung. Unter den weniger gewebsreizenden Stoffen fanden *Boeminghaus* und *Baldus*[27] beim Rivanol und bei einigen Silbersalzen auch in sehr hohen Verdünnungen eine starke und irreversible, spermientötende Wirkung. Als die besten chemischen Anticoncipientia sind nach *Baker, Ranson* und *Tynen*[11, 12] einige metallorganische Quecksilberverbindungen, z. B. Quecksilberphenylnitrat und Quecksilberphenylacetat zu betrachten. Stark spermientötend wirken ferner Sublimat, Formaldehyd, Kaliumpermanganat, Essigsäure, Citronensäure, Kresol und Quecksilberoxycyanat, während Chinin, Alaun, Borsäure, Magnesiumsulfat, Alkohol, Kaliumcynaid und andere Stoffe eine schwächere oder gar keine Wirkung ausüben *(Ishikawa*[49], *Uchigaki*[128], *Baker*[4], *Steinhäuser*[125] u. a.).

Ionenwirkung: Eine Reihe von Autoren, vor allem *Gellhorn* [34-39], untersuchten den Einfluß von verschiedenen Salzlösungen auf die Spermienmotilität. Warmblüterspermien werden von den Kationen Caesium und Lithium sofort abgetötet, während Kalium, Rubidium und Natrium günstig wirken. Besonders zeichnen sich aber die Magnesiumsalze aus, welche die Beweglichkeit erhöhen und die Bewegungsdauer verlängern. Die Anionen Fluor und Rhodan haben sofortigen Bewegungsstillstand zur Folge, während Tartrat-, Acetat-, Phosphat- und Sulfationen die Samenfäden nicht schädigen. Ähnliche Versuche wurden von *Ochi* [103], *Sato* [116], *Scheuring* [117-119], *Gaschott* [33] und *Bernstein* [24] durchgeführt.

Medikamente: Während viele chemische Substanzen hauptsächlich im Hinblick auf ihre anticonceptionelle Brauchbarkeit geprüft wurden, galt es bei einer Gruppe von Pharmaka zu untersuchen, ob sie nicht spermienschädigend wirken und dadurch eine Sterilität verursachen könnten. Die Versuche von *Uchigaki* [128] ergaben, daß Nikotin, Coffein, Kokain und Schwefel auf die Spermien einen schädigenden Einfluß ausüben, während Alkohol sich in großen Verdünnungen indifferent verhält, und Morphium und Opium ungiftig sind. *Baker* [6] beobachtete eine bewegungsstimulierende Wirkung von Strychnin, Brucin und Chloralhydrat, *Granzow* [41] eine solche von Pantocain und Percain. Letzterer konnte mit Chloroform, Äther, Chloräthyl und ähnlichen Stoffen die Samenfäden „narkotisieren", d. h. in einen reversiblen Bewegungsstillstand versetzen. An Medikamenten wurden weiter geprüft: Yohimbin *(Ri* [113]), Quecksilberpräparate und kolloidale Silberlösungen *(Kajiyama* [69, 70]) und in letzter Zeit vor allem die Sulfonamide, welche angeschuldigt worden waren, nach längerem Gebrauch Sterilität zu verursachen. In den Versuchen von *Kajiyama* [67, 68], *Shettles* [123], *Belonoschkin* und *Hense* [23] mit verschiedenen Präparaten ergab sich aber in vitro keine Beeinflussung von Intensität und Dauer der Spermienbewegung.

Bakterientoxine: Die Toxine von Pneumokokken, Gonokokken, Staphylokokken, Typhus-, Coli- und Dysenteriebazillen üben einen ungünstigen Einfluß auf die Spermienmotilität aus *(Uchigaki* [128], *Le Loirier* und *Fisch* [85] u. a.). *Donaldson* und *Vorwald* [32] prüften die Wirkung von Tuberkulin auf Samenfäden normaler und tuberkulöser Meerschweinchen, ohne aber einen Unterschied in ihrer Bewegung feststellen zu können.

Vitamine: Die Vitamine scheinen für die Bewegung der Samenfäden nicht bedeutungslos zu sein. Serum von B_1-avitaminotischen Ratten übt, verglichen mit dem normalen Serum einen ungünstigen Einfluß auf die Spermien aus *(Ueno* [129]). Beim Meerschweinchen ist festgestellt worden, daß bei Mangel an Vitamin C die Zahl und die Motilität der Samenfäden abnimmt und daß diese Verhältnisse nach Zufuhr von Ascorbinsäure wieder normal werden. Ein Überschuß des Vitamins übt zwar keinen Einfluß auf die Zahl und die Beweglichkeit aus, verlängert aber die Dauer der Bewegung um mehrere Stunden *(Zimmet* [139]). Auch das Spermabild von Stieren konnte durch subcutane Ascorbinsäurebehandlung verbessert und die Bewegungsdauer der Spermien verlängert werden *(Phillips, Lardy, Heizer* und *Rupel* [106]). Der Gehalt des menschlichen Sperma an Vitamin C ist nach *Nespor* [101] größer als derjenige von Blut und Liquor.

Körperflüssigkeiten: Schon *Leeuwenhoek* [84] (1722) und dann später vor allem *Kölliker* [75] haben die Einwirkung von Körperflüssigkeiten wie Milch, Harn, Blut, Lymphe, Galle usw. auf die Samenfäden untersucht. Andere Autoren wie *Nürnberger* [102] und *Uramoto* [130] verwendeten Ascites- und Ovarialcystomflüssigkeit, Liquor cerebrospinalis und Glaskörper. Mit Galle und Lymphe erhielt letzterer ungünstige Resultate. *Offergeld* [104], der die Verdauungsfermente als Anticoncipientia einführen wollte, konnte beobachten, daß die Samenzellen gegen Pepsin und Trypsin sehr widerstandsfähig sind und daß die Bewegung sogar der Einwirkung des Pankreassaftes erst nach einigen Stunden erliegt. Einen günstigen Einfluß sollen Liquor und Amnionflüssigkeit ausüben *(Segre* und *Valle* [121]). Die größte Rolle spielt jedoch das Blutserum, dessen bewegungsfördernde Wirkung von *Guggenberger* [45], *Mettenleiter* [92], *Moench* [95] und *Macias de Torrès* [88] beschrieben wird. Das Gegenteil, eine Bewegungsverkürzung, wird von *Uramoto* [130] und *Bederke* [14] behauptet.

Wichtiger sind die Untersuchungen über das Verhalten des Serums von Individuen verschiedenen Geschlechtes und in verschiedenen Phasen des weiblichen Cyclus. Während man zuerst ein auf die Spermien schädlich wirkendes, bei beginnender Menstruation auftretendes Menotoxin angenommen hatte, konnten *Macht* und *Elvers* [87] dieses ausschließen. Immerhin soll die Bewegungsdauer der Spermien im Serum menstruierender Frauen kürzer sein als im Serum aus dem

Intermenstruum *(Segre* und *Valle*[121]). In der Frage der Spermaimmunität der Frau konnten keine eindeutigen Resultate erhalten werden. So hatten *Bodnar* und *Kamniker*[26] das Serum von Virgines, graviden, geschlechtsreifen, klimakterischen und gynäkologisch erkrankten Frauen untersucht, ohne aber bedeutende Abweichungen im Verhalten der Spermien zu finden. Auch nach mehrmaliger Injektion von Sperma zeigte das Serum keine spermienschädigende Eigenschaften *(Macias de Torrès*[88]). Dagegen scheint Kastratenserum die Bewegung weniger zu unterhalten als Serum von Tieren mit erhaltenen Keimdrüsen. Ferner ist die Dauer der Spermienbewegung im Serum nichtgravider Weibchen gegenüber derjenigen in männlichem Serum beim Meerschweinchen verdoppelt. Die Gravidität hat eine Verkürzung und das frühe Puerperium eine Verlängerung der Bewegungsdauer zur Folge *(Lotze* und *Schultz*[86], *Granzow*[41]). Erstere hatten bei einigen Frauen eine extrem lange Beweglichkeit der Samenfäden um den Zeitpunkt der Ovulation feststellen können. Sie deuteten diese Erscheinung als Umstellung des weiblichen Organismus im Sinne einer Spermaaffinität und dachten an eine hormonale Bedingtheit derselben. Auch *Ueno*[129] sah an Ratten eine bessere Wirkung des Serums von im Brunststadium befindlichen Weibchen gegenüber dem Serum aus dem Ruhestadium zwischen zwei Brunstgängen.

Organextrakte: Verschiedene Autoren haben mit Extrakten aus Körperorganen eine Beeinflussung der Spermienmotilität und der Bewegungsdauer erzielen können. Auch ist beschrieben worden, daß Hoden- und Nebenhodenextrakte eine entgiftende Wirkung gegenüber verschiedenen Spermiengiften ausüben *(Metalnikow*[91]). Leber-, Nieren-, Hoden-, Lymphdrüsen- und Uterusextrakte wirken günstig auf die Samenfäden, Extrakte aus Muskel, Magen, Darm ungünstig oder verschieden, während sich solche von Gehirn, Hypophyse, Samenblasen, Prostata, Vagina, Tube, Speicheldrüsen und Milz indifferent verhalten *(Uramoto*[130], *Komatsu*[78], *Ohlin*[105]). Am meisten interessieren uns natürlich die Versuche mit innersekretorischen Organen. *Granzow*[41], welcher mit verschiedenen Organextrakten eine Verlängerung der Spermienbewegung beim Meerschweinchen erzielt hatte, sah besonders günstige Resultate mit Hoden- und Nebenhodenzusätzen, in welchen sich die Samenfäden 21 Stunden lang bewegten, gegen 35 Minuten in Ringerlösung. Andere Autoren, so *Segre* und

Valle[121], konnten bei Extrakten aus Hoden, Prostata, Follikeln, Corpus luteum und Hypophysenvorderlappen nur ein indifferentes Verhalten feststellen. *Kugota*[79] beschreibt eine verschiedene Wirkung von Uterusspreßsaft aus verschiedenen Stadien des oestrischen Cyclus auf die Spermien der Maus.

Alle diese Versuche können als primitive Untersuchungen hormonaler Einflüsse auf die Spermienbeweglichkeit bezeichnet werden. Der Hormongehalt in solchen Extrakten ist natürlich sehr unregelmäßig, auch werden unter Umständen die Wirkstoffe durch äußere Einflüsse während der Herstellung des Extraktes zerstört, und schließlich handelt es sich dabei auch immer um eine Mischung von verschiedenen Wirkstoffen, deren Wirkung nicht genau festgestellt werden kann und sich unter Umständen gegenseitig aufhebt.

Hormone: Gellhorn[34] hatte sich mit dem Einfluß von eiweißfreien Abbauprodukten innersekretorischer Drüsen, sogenannten Optonen, beschäftigt. Dabei bewirkten Testis- und Ovarialoptone eine bedeutende Erhöhung der Beweglichkeit und eine Verlängerung der Bewegungsdauer, während die Optone anderer inkretorischer Organe keine besondere Wirkung entfalteten. *Moore*[98] benützte in seinem „spermatozoa motility test" die Spermien als Indikator für die Produktion von männlichem Sexualhormon im Organismus. Werden nämlich bei einem Meerschweinchen beide Hoden entfernt, kann die Bewegung der Samenblasenspermien nach 23 Tagen nicht mehr ausgelöst werden. Wird jedoch nur ein Hoden entfernt und der andere in die freie Bauchhöhle transplantiert, können die Samenzellen noch nach 65—70 Tagen in Bewegung versetzt werden. Thyroxin wirkt bewegungsverlängernd *(Carter*[28,29], *Becher*[13]). Letzterer beobachtete auch einen bewegungsfördernden Einfluß von Follikelflüssigkeit in Ringerlösung, während Adrenalin, Progynon, Hypophysin und Insulin einen hemmenden und bewegungsverkürzenden Einfluß ausübten. Versuche mit Prolan, Hypophysin, Orasthin, Menformon und Insulin, welche Normalserum zugesetzt wurden *(Lotze* und *Schultz*[86]), sowie von Testoviron und Oestradiolbenzoat *(Belonoschkin*[19]) zeitigten keine besonderen Ergebnisse. Dagegen erhielt *Kajiyama*[71] an Kaninchenspermien bei Zusatz von Hypophysenvorderlappen- und Hinterlappenpräparaten eine Verstärkung und Verlängerung der Bewegung. Die optimale Hormonkonzentration betrug 7 %.

Bei allen diesen Versuchen über die Einwirkung von chemischen Stoffen und Organextrakten ist zu beachten, daß die Versuche durch äußere Einflüsse, so vor allem durch Bakterieneinwirkung recht erheblich gestört werden können, weshalb so oft sich vollkommen widersprechende Ergebnisse erzielt wurden. Auch war das Ausgangsmaterial ganz verschieden. Während einige Autoren die Samenfäden aus den Nebenhoden getöteter Tiere entnahmen, verwendeten andere ejakuliertes Sperma; teilweise wurden die Spermien in Ringerlösung suspendiert, teilweise mit Glucoselösung oder Blutserum verdünnt.

II. Eigene Versuche

1. *Material und Methodik:* An Vitaminen und Hormonen* standen uns folgende Substanzen zur Verfügung:

Vitamin B_1: Aneurin in Reinsubstanz.
Vitamin B_2: Lactoflavin in Reinsubstanz.
Vitamin B_6: Adermin in Reinsubstanz.
Nicotinsäureamid in Reinsubstanz.
Vitamin C: l-Ascorbinsäure in Reinsubstanz.
Vitamin E: Wasserlösliches Natriumsalz des Tocopherolphosphorsäureesters = Ephynal 4473/14 „Roche" in 1 % Lösung.
Thyroxin: Thyroxin „Roche" in 1 % wässeriger Lösung.
Hypophysenhinterlappenextrakt: Pituglandol „Roche" in wässeriger Lösung.
Acetylcholin: Acetylcholin „Roche" Trockenampullen.

Alle diese Substanzen wurden, sofern sie in fester Form vorlagen, in Bakerlösung aufgelöst. Zur Herstellung der Verdünnungsreihen wurden diese Stammlösungen, wie auch die Ampullenlösungen, weiter mit Bakerlösung verdünnt. Das übrige Vorgehen war mit der Methode, welche im ersten Teil dieser Arbeit beschrieben wurde, identisch.

2. Die Wirkung von Vitaminen

Aneurin: Infolge von ungeeignetem Sperma in 2 der 3 Versuchsreihen lassen sich die Ergebnisse der Versuche mit Vitamin B_1 nicht mit den übrigen Werten vergleichen, so daß wir auf die Wiedergabe der zugehörigen Kurven verzichten. Immerhin zeigt sich, daß die Zahl der beweglichen Samenfäden durch Aneurinlösungen von 0,1 und 0,01 % nicht beein-

* Sämtliche Präparate wurden uns von der Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. A.-G. Basel in zuvorkommender Weise zur Verfügung gestellt, wofür wir ihr auch an dieser Stelle bestens danken.

flußt wird. Erst eine 0,001 % Lösung scheint eine geringe bewegungserhaltende Wirkung auszuüben. Dagegen wird die Qualität der Spermienbewegung in den ersten 30 Stunden verbessert, und auch später liegen die Werte noch etwas über denjenigen der Kontrollversuche. Die Bewegungsdauer ist in der Lösung mit 0,1 % Aneuringehalt ausgesprochen verkürzt, wie aus Tabelle 4 ersichtlich ist, während in der 0,01 % Lösung die Samenfäden durchschnittlich noch nach 152 Stunden beweglich sind, gegenüber 85 Stunden in den Kontrollversuchen. Die 0,001 % Lösung scheint in dieser Beziehung indifferent zu wirken, trotz des verlangsamten Abfallens der Spermienzahl. Aus unseren Versuchen können wir schließen, daß *Aneurin die Tendenz zeigt, in stärkeren Verdünnungen die Motilität der Samenfäden zu verbessern,* was besonders in einer verlängerten Bewegungsdauer zum Ausdruck kommt.

Lactoflavin: Wir nahmen an, daß dieser wichtige Bestandteil des gelben Atmungsfermentes und anderer Fermente eine günstige Wirkung auf die Spermienbewegung zeigen würde, sahen uns aber in unseren Erwartungen getäuscht. Die Dauer der Bewegung ist in allen Verdünnungen verkürzt (Tabelle 4). Während die Kontrollversuche einen Durchschnitt von 126 Stunden ergeben, zeigt die 0,01 % Lösung eine Bewegungszeit von 65 Stunden, die 0,001 % Lösung eine solche von 116 Stunden und die 0,0001 % Lösung eine Bewegungsdauer von 112 Stunden. Die Bewegungsqualität ist bei der Konzentration von 0,01 % Lactoflavin während den ersten 70 Stunden über dem Kontrollwert, fällt aber dann, wie bei den anderen Verdünnungen stark darunter (Kurve 6). Die Zahl der beweglichen Spermien wird nicht groß verändert, wie Kurve 5 zeigt. Am meisten fällt die ungünstige Wirkung der 0,01 % Lactoflavinlösung auf, in welcher nach 20 Stunden nur noch 20 % Spermien beweglich sind, gegenüber 30 % in der Kontrolle und 35 % in der 0,0001 % Lösung. Zusammenfassend können wir feststellen, daß das *Vitamin B_2 in einer Konzentration bis 0,001 % eher ungünstig auf die Beweglichkeit der Samenfäden einwirkt,* während sich die 0,0001 % Lösung indifferent verhält.

Adermin: Auch dieser Stoff wirkt ziemlich ungünstig auf die Spermien. Kurve 7 zeigt einen starken Abfall der Zahl der beweglichen Samenzellen in allen Verdünnungen. Nach 20 Stunden beträgt ihre Zahl in der 0,1 % Lösung weniger als 10 %, in den 0,01 und 0,001 % Lösungen etwas über

Tabelle 4

Die Wirkung der Vitamine auf die Bewegungsdauer der Spermien

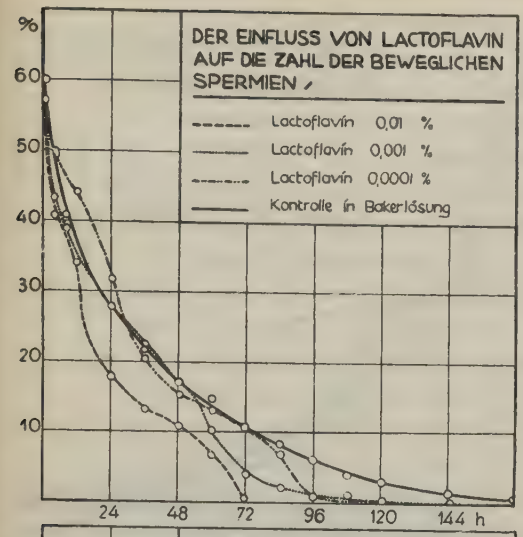
Die in Klammern gesetzten Zahlen bezeichnen die entsprechenden Kontrollwerte

Präparat	Konzentration %	Zahl der Versuche	Mittlere Bewegungsdauer	Minimum	Maximum
Aneurin	0,1	3 (7)	26 (85)	36 (28)	38 (142)
	0,01	3 (7)	152 (85)	48 (28)	383 (142)
	0,001	3 (7)	84 (85)	48 (28)	103 (142)
Lactoflavin	0,01	3 (7)	65 (126)	36 (76)	104 (196)
	0,001	3 (7)	116 (126)	95 (76)	148 (196)
	0,0001	3 (7)	112 (126)	95 (76)	192 (196)
Adermin	0,1	3 (6)	58 (118)	22 (72)	104 (142)
	0,01	3 (6)	82 (118)	46 (72)	104 (142)
	0,001	3 (6)	101 (118)	72 (72)	127 (142)
Nicotylamid	1	5 (8)	176 (221)	73 (104)	328 (700)
	0,1	8 (16)	245 (255)	96 (72)	605 (700)
	0,01	7 (14)	315 (264)	96 (72)	600 (700)
	0,001	5 (10)	236 (253)	96 (72)	347 (497)
Ascorbinsäure	0,1	3 (7)	48 (114)	8 (16)	108 (241)
	0,01	4 (9)	63 (114)	16 (16)	126 (241)
	0,001	4 (9)	99 (114)	25 (16)	165 (241)
	0,0001	3 (7)	78 (114)	16 (16)	153 (241)
Ephynal 4473/14	0,01	7 (17)	244 (197)	51 (16)	700 (700)
	0,005	6 (14)	259 (224)	51 (16)	700 (700)
	0,001	7 (17)	234 (197)	27 (16)	700 (700)

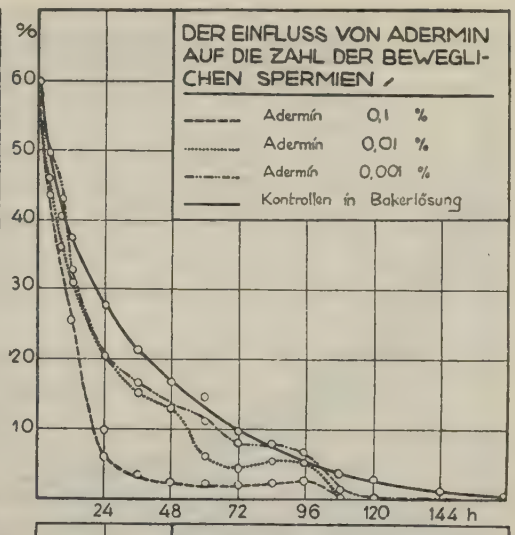
20 % und in reiner Bakerlösung 30 %. Die Qualität der Bewegung wird dagegen erst nach 50 Stunden deutlich verschlechtert (Kurve 8). Die Bewegungsdauer ist mit 58 und 82 Stunden in den beiden stärkeren Konzentrationen, verglichen mit dem Kontrollwert von 118 Stunden, ziemlich verkürzt (Tabelle 4).

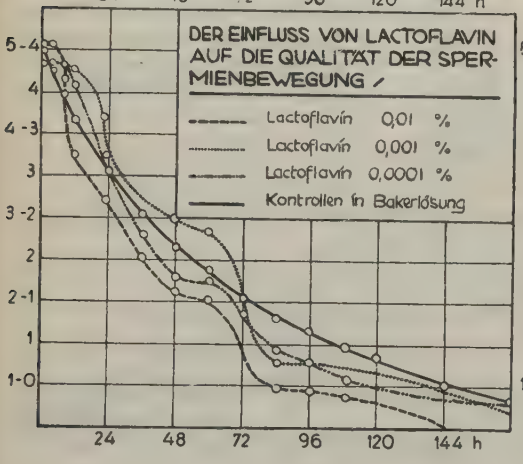
Nicotinsäureamid: Alle drei Kriterien der Spermienbewegung werden durch dieses Vitamin günstig beeinflußt, wenn dies auch in den Durchschnittswerten nicht sehr deutlich zum Ausdruck kommt. Denn während sich die Substanz in einigen Versuchsreihen durch starke Aktivierung der Beweglichkeit auszeichnete, wurden andere Versuche durch star-

5

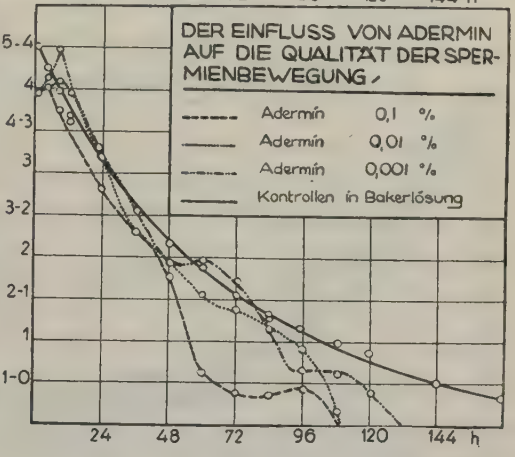


7





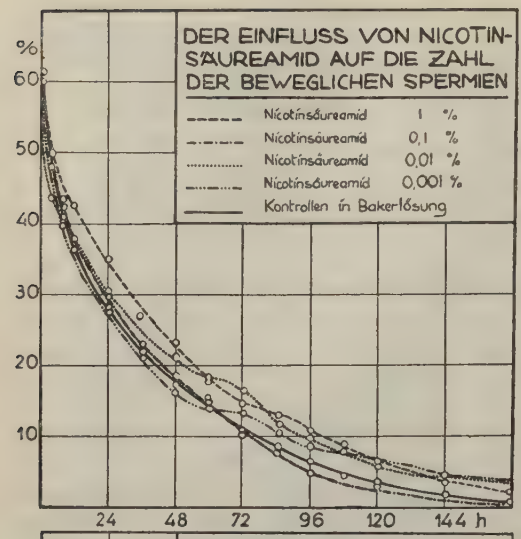
6



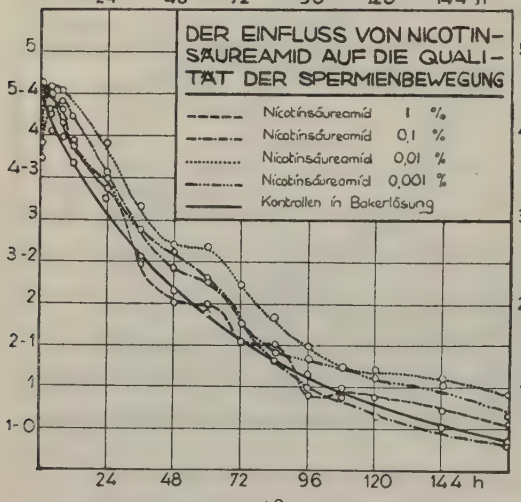
8

kes Pilz- und Bakterienwachstum empfindlich gestört, so daß die Durchschnittswerte auf diese Weise herabgesetzt wurden. Unsere Kurven 9 und 10 zeigen eine gleichmäßige Verbesserung des Bewegungsablaufes und der Bewegungsqualität, beinahe mit allen Lösungen. In der Tabelle 4 sind die Werte für die Bewegungsdauer teilweise verlängert. Aus diesen Ergebnissen, mehr aber noch aus unseren Beobachtungen, glauben wir schließen zu können, daß der *Zusatz von Nicotinsäureamid eine starke Aktivierung der Spermienmotilität verursacht.*

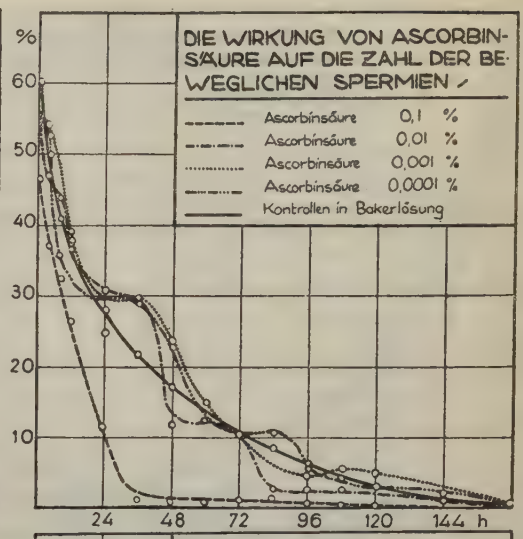
9



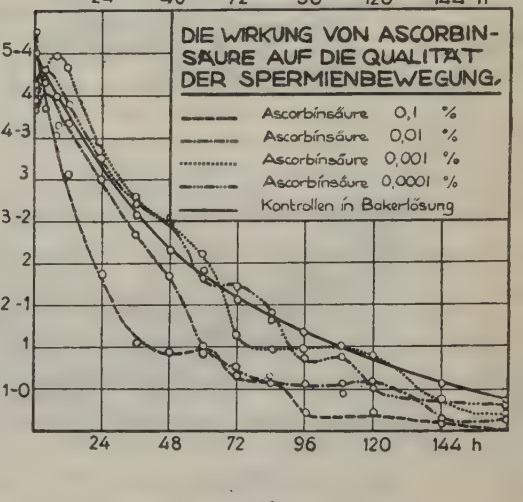
10



11



12



Ascorbinsäure: Die Bewegung wird durch das Vitamin C in vitro in allen Konzentrationen qualitativ verschlechtert, wie wir aus Kurve 12 ablesen können. Besonders ungünstig wirkt die 0,1 % Lösung. In dieser Konzentration ist auch die Zahl der beweglichen Samenfäden stark vermindert (Kurve 11), während diese in den anderen Lösungen erhöht ist. Nach 36 Stunden sind in der 0,1 % Lösung noch 1 % Spermien beweglich, in den stärker verdünnten Präparaten noch 30 %, in den Kontrollversuchen 20 %. Die Bewegungsdauer (Tabelle 4)

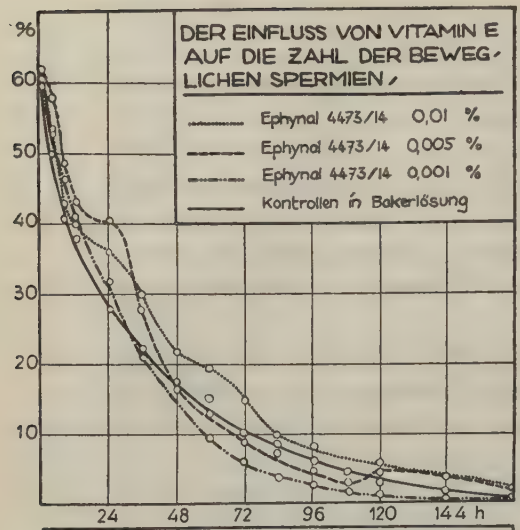
ist dagegen in allen Verdünnungen stark verkürzt, wiederum stärker in den höheren Konzentrationen. Der p_H-Wert der Lösungen war durch die gute Pufferwirkung der Bakerlösung unverändert, so daß die schlechten Resultate nicht auf eine höhere Wasserstoffionenkonzentration zurückzuführen sind. Auch in den Verdünnungen mit Ringerlösung, in welchen die Glycolyse als energieliefernder Prozeß zugunsten anderer Stoffwechselvorgänge zurücktritt, war keine Änderung der Wirkung festzustellen. Wir glauben deshalb, daß die *Ascorbinsäure direkt keine besondere Wirkung auf die Bewegung der Samenfäden ausübt.*

Vitamin E: Es ist vorauszuschicken, daß das von uns verwendete wasserlösliche Vitamin E-Präparat Ephynal 4473/14 in höheren Konzentrationen einen seifigen Charakter besitzt, weshalb die 0,5 % und 0,1 % Lösung eine ausgesprochen spermientötende Wirkung aufweist. Die Lösungen mit 0,01 % und 0,005 % Ephynal wirken hingegen sehr günstig auf Ablauf, Qualität und Dauer der Spermienbewegung, während die 0,001 % Lösung die Zahl der beweglichen Samenzellen nicht groß verändert (Kurven 13 und 14). Besonders deutlich zeigt sich die bewegungsfördernde Wirkung in der extrem hohen Bewegungsdauer von 700 Stunden bei allen Lösungen und in der Tatsache, daß auch die Minimalwerte über denjenigen der Kontrollen stehen (Tabelle 4). *Das wasserlösliche Vitamin E-Präparat weist also eine günstige Wirkung auf die Spermienbeweglichkeit auf.*

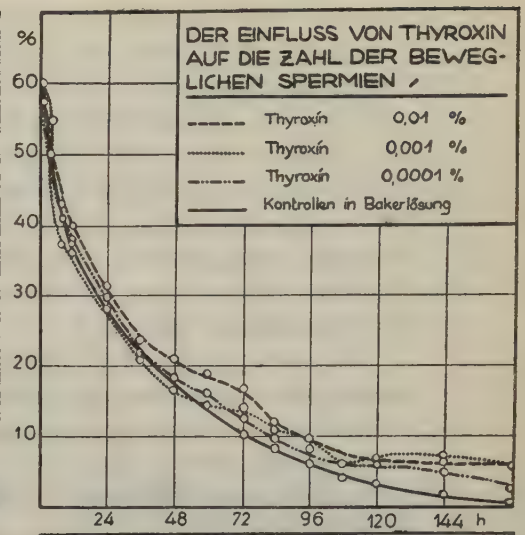
3. Die Wirkung einiger Hormone

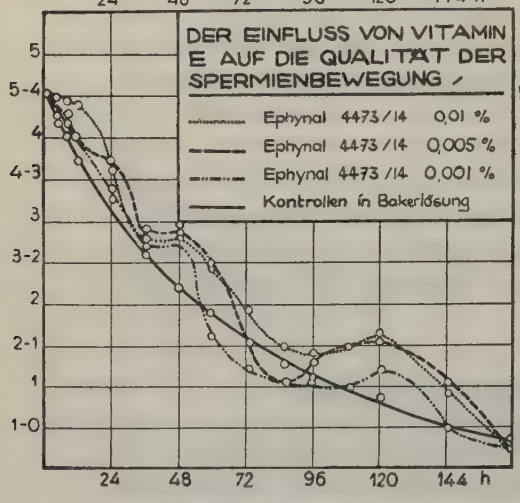
Thyroxin: Schon *Carter* [28, 29] hatte an Seeigelspermien beobachtet, daß Thyroxin den Sauerstoffverbrauch steigert und die Bewegungsdauer verlängert. Auch in unseren Versuchen erhielten wir ähnliche Resultate. Zwar liegen die Kurven der Spermienzahl und der Bewegungsqualität beide sehr nahe an den Kontrollkurven (Kurven 15 und 16), doch zeigt die Tabelle 5 eine Verlängerung der Bewegungsdauer mit einem Durchschnittswert von 389 Stunden in der 0,001 % Lösung und 374 Stunden in der Konzentration von 0,0001 % gegenüber einer Bewegungszeit von 245 Stunden in Bakerlösung. Auch hier weist die Zeit von 700 Stunden, während welcher in 2 Thyroxinversuchen die Spermien beweglich blieben, darauf hin, daß *dieses Hormon die Bewegungen der Samenfäden*

13

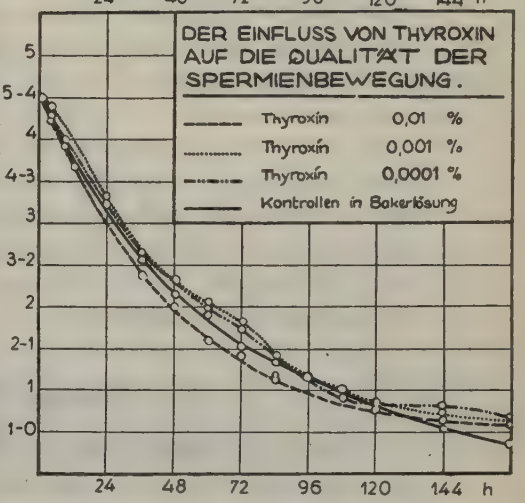


15





14



16

sehr wirksam unterstützt, wenn auch in derselben Serie die Spermien eines Kontrollversuches gleich lang in Bewegung blieben.

Acetylcholin: Da *Becher*[13] beim Adrenalin einen bewegungshemmenden Einfluß beobachten konnte, interessierten wir uns vor allem auch für die Wirkung dessen Antagonisten, des Acetylcholins. Dies umso mehr, als wir eine störende Wirkung durch Fermente nicht zu befürchten hatten, da nach *Zeller* und *Joël*[138] der Cholinesterasegehalt des Spermas,

Tabelle 5

Die Wirkung einiger Hormone auf die Bewegungsdauer der Spermien

Die in Klammern gesetzten Zahlen bezeichnen die entsprechenden Kontrollwerte.

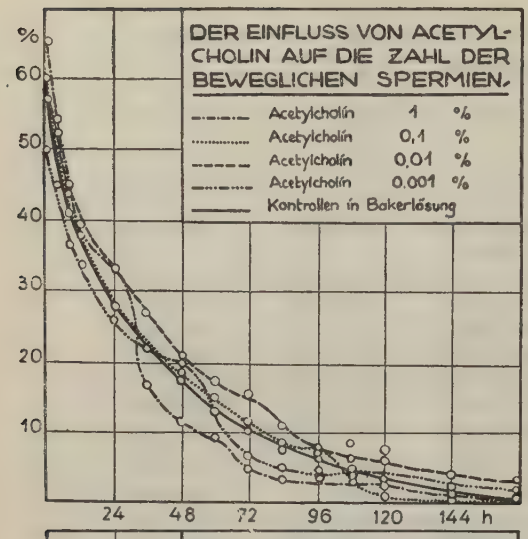
Präparat	Konzentration %	Zahl der Versuche	Mittlere Bewegungsdauer	Minimum	Maximum
Thyroxin	0,01	4 (8)	248 (245)	48 (72)	339 (700)
	0,001	4 (8)	389 (245)	120 (72)	700 (700)
	0,0001	4 (8)	374 (245)	120 (72)	700 (700)
Acetylcholin	1	2 (4)	134 (324)	103 (143)	165 (700)
	0,1	3 (6)	160 (495)	120 (72)	184 (700)
	0,01	4 (8)	232 (245)	96 (72)	376 (700)
	0,001	2 (4)	321 (195)	96 (72)	546 (402)
Pituglandol	0,1	3 (6)	179 (269)	120 (72)	210 (700)
	0,01	3 (6)	163 (269)	66 (72)	402 (700)
	0,001	2 (4)	225 (192)	120 (72)	330 (402)

verglichen mit demjenigen anderer Organe außerordentlich klein ist.

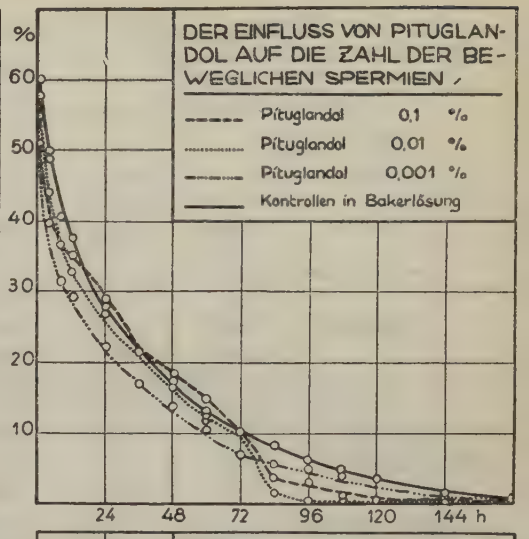
Die 1 % Lösung wirkte nun auf die Zahl der beweglichen Spermien, wie auch auf Qualität und Dauer der Bewegung ungünstig. In den stärker verdünnten Lösungen ist dieser hemmende Einfluß aber nicht mehr festzustellen, die Kurven nähern sich der Kontrollkurve und überschneiden diese teilweise (Kurven 17 und 18). Eine Erhöhung der Zahl der beweglichen Spermien zeigt die 0,01 % Lösung. Die Bewegungsdauer ist in den höheren Konzentrationen deutlich verkürzt, in der 0,001 % Lösung ist sie gleich wie in den Kontrollversuchen und bei 0,0001 % verlängert (Tabelle 5). Zusammenfassend können wir feststellen, daß *Acetylcholin in Konzentrationen bis 0,01 % die Spermienbewegung hemmt und sich in niedrigeren Konzentrationen indifferent verhält.*

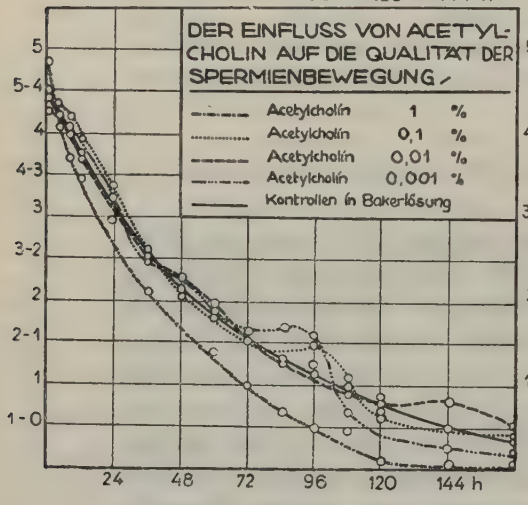
Pituglandol: Dieser Hypophysenhinterlappenextrakt wirkt in den Konzentrationen von 0,1 und 0,01 % indifferent auf Bewegungsablauf und Bewegungsintensität, während die 0,001 % Lösung die Zahl der beweglichen Spermien vermindert, deren Bewegung aber, wenn auch nicht bedeutend, erhöht (Kurven 19 und 20). Die Kurven sind ziemlich eng an die Kontroll-

17

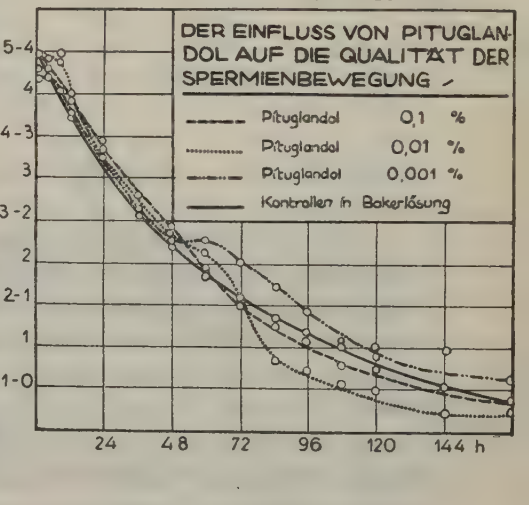


19





18



20

kurve angeschlossen. Mit Ausnahme der 0,001 % Lösung wurde die Bewegung in allen Verdünnungen verkürzt, wie aus Tabelle 5 ersichtlich ist. *Eine eindeutige Beeinflussung der Spermienmotilität konnten wir aber in unseren Versuchen nicht beobachten.*

III. Diskussion

Einige der von uns verwendeten Vitamine spielen im Stoffwechsel des Organismus eine große Rolle als Ferment-

bestandteile, so vor allem das Lactoflavin, das Aneurin und das Nicotinsäureamid. Wahrscheinlich greifen auch die anderen Vitamine in die Oxydations- und Reduktionsvorgänge des Körpers ein. Wir stellten uns nun die Frage, ob solche Substanzen nicht auch auf den Energiehaushalt der Samenfäden einwirken und damit die Beweglichkeit derselben beeinflussen könnten.

So erwarteten wir vom *Aneurin,* welches im Körper in den fermentativen Kohlehydratstoffwechsel eingreift, eine Beeinflussung der glycolytischen Vorgänge im Sperma. *Ueno*[129] hatte beschrieben, daß das Serum von B_1-avitaminotischen Ratten einen schädlichen Einfluß auf die Samenfäden ausübe, im Gegensatz zum normalen Serum, welches die Bewegung begünstige. Es ist nun natürlich kaum anzunehmen, daß dabei eine direkte Vitaminwirkung vorliegt. Wahrscheinlich sind im geschädigten Organismus gewisse Stoffwechselzwischenprodukte vermehrt, welche ihrerseits auf den ganzen Körper, nicht nur auf die Spermien ungünstig einwirken. In unseren direkten Versuchen mit dem Vitamin beobachteten wir eine anfängliche Verbesserung der Bewegungsqualität, was auf eine Steigerung der Stoffwechselvorgänge schließen läßt, und vor allem eine Verlängerung der Bewegungsdauer, welche wahrscheinlich auf eine verbesserte Ausnützung der Energiereserven zurückzuführen ist.

Durch *Lactoflavin,* dem Bestandteil verschiedener Fermente, und auch durch *Adermin,* dessen Wirkungsweise im Körper noch wenig bekannt ist, wird die Spermienbewegung geschädigt. Hingegen übt *Nicotinsäureamid* einen günstigen Einfluß auf diese aus. Als Bestandteile verschiedener Fermente und Cofermente ist dieses Vitamin am Kohlehydratstoffwechsel des Organismus wesentlich beteiligt. Es scheint auch auf die Samenfäden eine direkte Wirkung auszuüben. In verschiedenen Versuchsreihen erhielten wir eine auffallende Steigerung der Bewegungsintensität und teilweise auch eine bedeutende Verlängerung der Bewegungsdauer. Die Zahl der beweglichen Spermien übertraf jene der Kontrollversuche. Wahrscheinlich wird auch durch diesen Stoff eine bessere Ausnützung des Traubenzuckers der Verdünnungslösung ermöglicht.

Das *Vitamin C,* dessen genauer Wirkungsmechanismus im Körper noch ungeklärt ist, soll nach den Arbeiten von *Zimmet*[139], *Phillips, Lardy, Heizer* und *Rupel*[106] eine indirekte

Wirkung auf die Spermien ausüben. Unsere Versuche ergaben eine Verkürzung der Bewegungsdauer und eine Verschlechterung der Bewegungsqualität; einzig in den stärkeren Verdünnungen war die Zahl der beweglichen Spermien erhöht. Das Vitamin C scheint also, wie neuerdings auch *Belonoschkin* [22] berichtet, hauptsächlich auf den Nebenhoden zu wirken, während eine direkte Wirkung auf die Spermien nicht nachzuweisen ist.

Das *Vitamin E* reguliert bekanntlich u. a. die normale Entwicklung des Keimdrüsenepithels. Es war nun unsere Absicht, zu untersuchen, ob dieser Stoff auch auf die ausgereiften Keimzellen noch eine Wirkung ausübt. Solche Versuche waren uns allerdings nur deshalb möglich, weil uns die Firma F. Hoffmann-La Roche & Co. in Basel ein wasserlösliches Vitamin E-Präparat zur Verfügung stellen konnte. Dieses wirkt sehr günstig auf die Bewegung der Samenfäden, vor allem konnten wir eine Verbesserung der Beweglichkeit und eine beträchtliche Verlängerung der Bewegungsdauer feststellen.

Ueber den Vitamingehalt des Spermas ist noch wenig bekannt. *Nespor* [101] gibt einen hohen Vitamin C-Wert an, während wir einer persönlichen Mitteilung von *Koffler* und *Joël* entnehmen, daß im Sperma kein Vitamin E enthalten ist. Es stellt sich aber doch die Frage, wie weit in unseren Versuchen durch Zugabe solcher Stoffe ein etwa bestehendes Defizit ausgeglichen wurde. Einen Anhaltspunkt für eine derartige Wirkung besitzen wir in unserer Beobachtung, daß nicht alle Versuche durch Vitaminzusatz gleichmäßig beeinflußt wurden.

Untersuchungen über direkte Einwirkung von *Hormonen* auf die Spermienbewegung sind schon von einigen Autoren durchgeführt worden. Vor allem wäre es interessant, die Wirkung der Sexualhormone kennen zu lernen. Doch glauben wir nicht, daß es zulässig ist, solche Versuche mit fettlöslichen Präparaten durchzuführen, wie *Belonoschkin* [19] dies tat. Deshalb benügten wir uns vorläufig mit der Untersuchung einiger wasserlöslicher Hormone.

Carter [28, 29] und *Becher* [13] beobachteten eine Aktivierung der Lebensvorgänge der Spermien durch Zugabe von *Thyroxin* und auch wir erreichten mit diesem Hormon eine Verlängerung und Intensivierung der Bewegung. Dagegen gelang es uns weder beim *Acetylcholin* noch beim *Pituglandol* eine besondere Wirkung festzustellen. Auch *Lotze* und *Schultz* [86] beschrieben ein indifferentes Verhalten von Hypophysenhormo-

nen. Dagegen beobachtete *Kajiyama*[71], allerdings bei sehr hoher Konzentration (7%), eine Verlängerung der Bewegungsdauer durch Hypophysenvorderlappen- und Hinterlappenpräparate.

Es ist anzunehmen, daß die meisten Hormone und Vitamine, auch wenn sie keine direkte Wirkung auf die Spermien erkennen lassen, indirekt, durch Beeinflussung des Gesamtorganismus oder von Hoden und Nebenhoden, eine Wirkung auf die Samenfäden ausüben. Eine therapeutische Verwendung auch solcher Stoffe ist deshalb für die Sterilitätsbekämpfung nicht ausgeschlossen. Vor allem glauben wir aber, daß in Sterilitätsuntersuchungen eventuellen Vitaminmangelerscheinungen und allgemeinen Stoffwechselstörungen größte Beachtung zu schenken ist, können doch die sehr empfindlichen Keimzellen bei solchen Zuständen vorübergehend geschädigt sein, wie dies in Tierversuchen ja mehrfach bewiesen wurde. Ergeben sich in der Untersuchung Störungen der Spermiogenese oder der Bewegungsverhältnisse, sollte eine Behandlung besonders mit Vitamin E nicht unversucht gelassen werden.

Zusammenfassung

1. Es werden die Bewegungsverhältnisse menschlicher Spermien in vitro unter dem Einfluß von Verdünnungslösungen, Licht, Wärme und einigen Vitamin- und Hormonpräparaten untersucht.

2. Durch Verdünnung des Spermas mit gewissen, isotonen Salz- und Zuckerlösungen wird die Bewegung verlängert und ihre Qualität verbessert.

3. Als Verdünnungslösung tritt vor allem die Spermasuspensionslösung nach Baker hervor, welche neben einer deutlichen Verbesserung der Bewegungsqualität eine Erhöhung der Zahl der beweglichen Spermien und einer Verlängerung der Bewegung bis zu 700 Stunden bewirkt.

4. Ringerlösung zeigt keine bewegungsfördernde, sondern im besten Falle eine bewegungserhaltende Wirkung.

5. Bei Körpertemperatur ist die Bewegungsdauer der Spermien recht erheblich verkürzt, wobei aber eine bedeutende Steigerung der Bewegungsintensität beobachtet wird.

6. Tageslicht scheint die Spermienbewegung zu verkürzen, ohne die Beweglichkeit zu steigern.

7. Thyroxin, Nicotinsäureamid und Vitamin E, in geringerem Maße auch Aneurin, weisen die Tendenz auf, die Motilität der Samenfäden günstig zu beeinflußen.

8. Ascorbinsäure, Acetylcholin und Pituglandol scheinen sich indifferent zu verhalten.

9. Beim Lactoflavin und besonders beim Adermin tritt eher ein bewegungshemmender Einfluß in Erscheinung.

Summary

(1) Examination of mobility conditions of human sperm in vitro under the influence of diluent solutions, light, heat and several vitamin- and hormon preparations.

(2) Through dilution of sperm with certain isotonic saline and sugar solutions the mobility is prolonged and its quality improved.

(3) Baker's solution for sperm suspension is especially effective; it causes remarcable improvement of mobility, increase of the number of movable sperms and prolongation of mobility up to 700 hours.

(4) Ringer's solution does not favour mobility but at best preserves it.

(5) At body temperature the duration of mobility of sperm is considerably shortened, but intensity of mobility is increased.

(6) Daylight seems to shorten the movements of sperm without increasing mobility.

(7) Thyroxine, nicotine-amide, and vitamin E, to less extent aneurine, have the tendency of influencing favourably the mobility of spermatozoons.

(8) Ascorbic acid, acetylcholine and pituglandol seem to have no effect.

(9) Lactoflavine and esp. adermin have inhibiting effect on mobility.

Résumé

1⁰ Observation des mouvements des spermatozoides humains in vitro sous l'influence de différentes solutions de dilution, de la lumière, de la chaleur, de certaines vitamines et hormones.

2⁰ En diluant le sperme avec certaines solutions isotoniques salines et sucrées, la durée et la qualité des mouvements sont augmentées.

3⁰ La solution de dilution de Baker est à mentionner en particulier; elle améliore la qualité des mouvements tout en augmentant le nombre des spermatozoides mobiles. Elle permet d'observer une prolongation des mouvements allant jusqu'à 700 heures.

4⁰ La solution de Ringer n'active pas la mobilité; tout au plus peut on lui attribuer une « neutralité bienveillante ».

5⁰ A la température du corps, la diminution de la durée des mouvements est nette; par contre on observe une forte augmentation de l'intensité des mouvements.

6⁰ La lumière du jour semble diminuer la durée des mouvements, sans en augmenter l'intensité.

7⁰ La thyroxine, l'amide de l'acide nicotinique, la vitamine E et à dose faible l'aneurine influencent favorablement la mobilité des spermatozoides.

8⁰ L'acide ascorbique, l'acetylcholine et le pituglandol semblent ne pas exercer d'influence.

9⁰ La lactoflavine et surtout l'adermine inhibent plutôt les mouvements.

Literaturverzeichnis

[1] *Baker, J. R.:* J. Hyg. 29, 323, 1929. — [2] *Derselbe:* Quart. J. exper. Physiol. 20, 67, 1930. — [3] *Derselbe:* Quart. J. exper. Physiol. 21, 139, 1931. — [4] *Derselbe:* J. Hyg. 31, 189, 1931. — [5] *Derselbe:* J. Hyg. 31, 309, 1931. — [6] *Derselbe:* Nature 127, 708, 1931. — [7] *Derselbe:* J. Hyg. 32, 171, 1932. — [8] *Derselbe:* J. Hyg. 32, 550, 1932. — [9] *Baker, J. R.* und *Ranson, M. R.:* J. Hyg. 34, 474, 1934. — [10] *Baker, J. R., Ranson, R. M.* und *Tynen:* J. Hyg. 37, 474, 1937. — [11] *Dieselben:* Lancet 2, 882, 1938. — [12] *Dieselben:* Eugen. Rev. 30, 261, 1939. — [13] *Becher, H.:* Verh. anat. Ges. 39, 191, 1931. — [14] *Bederke:* Arch. Tierernähr. u. Tierzucht 9, 585, 1933. — [15] *Belding, D. L.:* Amer. J. Obstetr. 26, 868, 1933. — [16] *Belonoschkin, B.:* Z. Biol. 92, 542, 1932. — [17] *Derselbe:* Arch. Gynäk. 158, 345, 1934. — [18] *Derselbe:* Münch. med. Wschr. 847, 1939. — [19] *Derselbe:* Arch. Gynäk. 169, 151, 1939. — [20] *Derselbe:* Münch. med. Wschr. 1007, 1941. — [21] *Derselbe:* Arch. Gynäk. 174, 357, 1943. — [22] *Derselbe:* Biologie der menschl. Spermatozoen im Konzeptionsgeschehen, Leipzig 1944 (Thieme). — [23] *Belonoschkin, B.* und *Hense:* Zbl. Gynäk. 880, 1942. — [24] *Bernstein, A.:* Bull. Biol. et Méd. expér. URSS 2, 186, 1936. — [25] *Best:* J. Physiol (Brit.) 67, 256, 1929. — [26] *Bodnar* u. *Kamniker:* Z. Geburtsh. 89, 85, 1925. — [27] *Boeminghaus, H.* u. *Baldus, U.:* Z. Urol. 28, 433, 1934. — [28] *Carter, G. S.:* J. exper. Biol. 7, 41, 1930.

— [29] *Derselbe:* J. exper. Biol. 9, 378, 1932. — [30] *Cohn, E. J.:* Anat. Rec. (Am.), 11, 530, 1916—17. — [31] *Derselbe:* Biol. Bull. (Am.), 34, 167, 1918. — [32] *Donaldson, L. C.* und *Vorwald, A. J.:* Amer. Rev. Tbc. 27, 401, 1933. — [33] *Gaschott, O.:* Arch. Hydrobiol. Suppl. 4, 440, 1925. — [34] *Gellhorn, E.:* Pflügers Arch. 185, 263, 1920. — [35] *Derselbe:* Pflügers Arch. 193, 554, 1922. — [36] *Derselbe:* Pflügers Arch. 193, 576, 1922. — [37] *Derselbe:* Pflügers Arch. 216, 181, 1927. — [38] *Derselbe:* Pflügers Arch. 216, 198, 1927. — [39] *Derselbe:* Pflügers Arch. 216, 220, 1927. — [40] *Goldblatt, M.:* Biochem. J. 29, 1346, 1935. — [41] *Granzow, J.:* Arch. Gynäk. 148, 149, 1932. — [42] *Gray, J.:* Quart. J. microsc. Sci. 61, 119, 1915—16. — [43] *Derselbe:* Brit. J. exper. Biol. 5, 337, 1928. — [44] *Günther, G.:* Pflügers Arch. 118, 551, 1907. — [45] *Guggenberger, J.:* Mschr. Geburtsh. 59, 22, 1922. — [46] *Hammond, J.:* J. exper. Biol. 7, 175, 1930. — [47] *Hartmann, C. B.:* Sex and Internal Secretion, 630, London 1939 (Baillière-Tindall). — [48] *Hirokowa, W.:* Biochem. Z. 19, 291, 1909. — [49] *Ishikawa, Y.:* Progr. méd. (Fr.) 51, 187, 1927. — [50] *Iwanow, E. E.:* Arch. mikr. Anat. 77, 240, 1911. — [51] *Derselbe:* Die künstl. Befruchtung der Haustiere, Hannover 1912. — [52] *Derselbe:* C. r. Soc. Biol. 102, 363, 1929. — [53] *Derselbe:* C. r. Soc. Biol. 103, 57, 1930. — [54] *Derselbe:* Z. Zücht. B, 20, 404, 1931. — [55] *Iwanow, J. J.:* Fiziol. zhur. (Rußl.) 18, 950, 1935. — [56] *Iwanow, E. E.:* Biochem. Z. 278, 101, 1935. — [57] *Derselbe:* Bull. Soc. Chim. Biol. 18, 1613, 1936. — [58] *Derselbe:* Biochimija (Rußl.) 1, 245, 1936. — [59] *Iwanow, J. J.:* Fiziol. zhur. (Rußl.) 20, 561, 1936. — [60] *Derselbe:* Biochimija (Rußl.) 2, 926, 1937. — [61] *Iwanow, E. E.:* Bull. Biol. et Méd. expér. URSS. 9, 311, 1940. — [62] *Jahnel, E.:* Klin. Wschr. 1273, 1938. — [63] *Joël, C. A.:* Schweiz. med. Wschr. 23, 440, 1942. — [64] *Derselbe:* Studien am menschlichen Sperma, Basel 1942 (Schwabe). — [65] *Joël, C. A.* und *Pollak, O. J.:* Mschr. Geburtsh. 109, 91, 1939. — [66] *Dieselben:* Helvet. med. Acta 7, 1, 1940. — [67] *Kajiyama, T.:* Mitt. med. Akad. Kyoto 28, 288, 1940. — [68] *Derselbe:* Mitt. med. Akad. Kyoto 29, 619, 1940. — [69] *Derselbe:* Mitt. med. Akad. Kyoto 29, 1278, 1940. — [70] *Derselbe:* Mitt. med. Akad. Kyoto 30, 282, 1940. — [71] *Derselbe:* Mitt. med. Akad. Kyoto 30, 654, 1940. — [72] *Kajiyama, T.* und *Komori, S.:* Mitt. med. Akad. Kyoto 29, 631, 1940; 30, 275, 1940. — [73] *Knaus, H.:* Arch. Gynäk. 151, 302, 1932. — [74] *Kölliker, A.:* Neue Denkschr. Schweiz. Ges. Natw. 8, 1, 1847. — [75] *Derselbe: Z.* wiss. Zool. 7, 201, 1856. — [76] *Komatsu, J.:* Mitt. med. Akad. Kyoto 3, 89, 1929. — [77] *Derselbe:* Mitt. med. Akad. Kyoto 4, 1930. — [78] *Derselbe:* Mitt. med. Akad. Kyoto 5, 1121, 1930. — [79] *Kugota, T.:* Z. Zellforsch. usw. 9, 457, 1929 .— [80] *v. Lanz, T.:* Z. Anat. 74, 761, 1924. — [81] *Derselbe:* Klin. Wschr. 6, 909, 1927. — [82] *Derselbe:* Pflügers Arch. 222, 181, 1929. — [83] *Lardy, H. A.* und *Phillips, P. H.:* J. Biol. Chem. 138, 195, 1941. — [84] *Leeuwenhoek, A. van:* Opera omnia, Langerrah 1722. — [85] *Le Loirier* und *Fisch:* Gynéc. et Obst. 20, 596, 1929. — [86] *Lotze, H.* und *Schultz, W.:* Zbl. Gynäk. 56, 732, 1932. — [87] *Macht, D. T.* und *Elvers, C. F.:* Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 21, 254, 1924. — [88] *Macias de Torrès,* E.: Gynéc. et Obstétr. 30, 544, 1934. — [89] *Macleod, J.:* Amer. J. Physiol. 132, 193, 1941. — [90] *Mantegazza:* Gazz. med. ital. Lombardia 1866. — [91] *Metalnikow, S.:* Pflügers Arch. 138, 14, 1911. — [92] *Mettenleiter, M.:* Münch. med. Wschr. 72, 977, 1925. — [93] *Derselbe:* Arch. Gynäk. 126, 251, 1925. — [94] *Moench,*

G. L.: J. amer. med. Assoc. 94, 478, 1930. — [95] *Derselbe:* Z. Geburtsh. Suppl. 99, 1931. — [96] *Derselbe:* Amer. J. Obstetr. 38, 152, 1939. — [97] *Moleschott* und *Ricchetti:* Wien. med. Wschr. 5, 273, 1855. — [98] *Moore, C. R.:* Biol. Bull. (Am.) 55, 339, 1928. — [99] *Muschat, M.:* Surg., etc. 42, 778, 1926. — [100] *Nemiloff, A.:* Z. Anat. u. Entw.gesch. 79, 1, 1926. — [101] *Nespor, E.:* Klin. Wschr. 135, 1939. — [102] *Nürnberger, L.:* Mschr. Geburtsh. 53, 87, 1920. — [103] *Ochi, S.:* Acta Scholae med. Kyoto 1, 341, 1916—17. — [104] *Offergeld, H.:* Virchows Arch. 263, 120, 1927. — [105] *Ohlin, D. A.:* Acta obstetr. Scand. (Schwd.) 15, 50, 1935. — [106] *Phillips, P. H., Lardy, H. A., Heizer* und *Rupel:* J. Dairy Sci. 23, 873, 1940. — [107] *Popa, S. T.:* C. r. Soc. Biol. 100, 45, 1929. — [108] *Quatrefages, M. A. de:* Ann. science nat. (Zool.) 13, 110, 1850. — [109] *Redenz, E.:* Würzbg. Abh. 4, 107, 1926—27. — [110] *Derselbe:* Pflügers Arch. 216, 605, 1927. — [111] *Derselbe:* Z. Zellforsch. usw. 9, 734, 1929. — [112] *Derselbe:* Biochem. Z. 257, 1933. — [113] *Ri, Y. K.:* Mitt. med. Akad. Kyoto 29, 1282, 1940. — [114] *Ritala, A. M.:* Acta soc. Medic. fenn. Duodecim B, XIX, 2, 1933. — [115] *Roemmele, O.:* Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 44, 85, 1927. — [116] *Sato, S.:* Acta Scholae med. Kyoto 1, 361, 1917. — [117] *Scheuring, L.:* Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 43, 361, 1928. — [118] *Derselbe:* Arch. Hydrobiol. Suppl. 4, 183, 1928. — [119] *Derselbe:* Zool. Jb., Abt. allg. Zool. u. Physiol. 45, 651, 1928. — [120] *Schlenk, W.* und *Kahmann, H.:* Biochem. Z. 295, 283, 1938. — [121] *Segre* und *Valle:* Ginecologia 1, 925, 1935. — [122] *Shettles, L. B.:* Amer. J. Physiol. 128, 408, 1940. — [123] *Derselbe:* Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. 44, 392, 1940. — [124] *Spallanzani:* Genf 1785. — [125] *Steinhäuser, W.:* Mschr. Geburtsh. 63, 146, 1923. — [126] *Stigler:* Pflügers Arch. 155, 201, 1914. — [127] *Uchigaki, S.:* Jap. J. Obstetr. 10, 5, 1927. — [128] *Derselbe:* Jap. J. Obstetr. 10, 19, 1927. — [129] *Ueno, J.:* Jap. J. Obstetr. 17, 256, 1934. — [130] *Uramoto, S.:* Acta Scholae med. Kyoto 5, 33, 1922. — [131] *Weisman, A. J.:* Amer. J. Obstetr. 38, 313, 1939. — [132] *Derselbe:* Spermatozoa and Sterility, New York 1941 (Hoeber). — [133] *Williams, W. W.:* Ur. Rev. (Am.) 43, 587, 1939. — [134] *Windstosser, K.:* Klin. Wschr. 14, 193, 1935. — [135] *Wolf, C. B.:* J. Physiol. (Brit.) 55, 246, 1921—22. — [136] *Yamane, J. Kato, K.:* Biol. Zbl. 48, 459, 1928. — [137] *Dieselben:* Z. Tierzücht. 12, 347, 1928. — [138] *Zeller, A.* und *Joël, C. A.:* Helvet. chim. Acta 24, 968, 1941. — [139] *Zimmet, D.:* C. r. Soc. Biol. 130, 1476, 1939.